



**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**KORONER ATEROSKLEROZ İLE IL 10 (INTERLEUKİN 10 - 592 C/A)
GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Müslim GÜL

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2012



**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**KORONER ATEROSKLEROZ İLE IL 10 (INTERLEUKİN 10 - 592 C/A)
GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Müslim GÜL

UZMANLIK TEZİ

Doç.Dr. Öcal BERKAN
Danışman Öğretim Üyesi

SİVAS

2012

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Doç. Dr. Erhan ATAHAN (Bölüm Başkanı)

Doç. Dr. Öcal BERKAN (Öğr. Üyesi)

Yrd. Doç. Dr. Şinasi MANDUZ (Öğr. Üyesi)

Bu tez, 13.12.2011 tarih ve 2011/021 sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Gökhan KÖYLÜOĞLU

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Aterosklerozun Genetiksel ilişkisinin son zamanlarda, Kalp ve Damar Cerrahisi için önemli bir araştırma konusu olması nedeniyle böyle bir çalışmayı gerçekleştirme konusunda beni yönlendiren Doç. Dr. Öcal BERKAN ve araştırmamda desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Anabilim Dalımızın öğretim üyeleri olan, Bölüm Başkanımız Doç. Dr. Erhan ATAHAN, Yrd. Doç. Dr. Şinasi MANDUZ ve Yrd. Doç. Dr. Nurkay KATRANCIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

DNA izole edilmesi ve seçilen gen bölgesinin taranmasında bilgi ve yöntem açısından yardımları olan ve teknik destek veren Sayın Yrd. Doç. Dr. Serdal ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Müslim GÜL

ÖZET

Ateroskleroz, vücutta orta ve büyük boy arterleri etkileyen kronik bir süreçtir. Endotel işlev bozukluğu ateroskleroza başlatan en temel olaylardan biridir. Bu süreç sonucunda bir dizi inflamatuvar olay tetiklenerek, ortamda iltihap hücrelerinin ve sitokinlerin birikimine yol açar. Dolaşımında yer alan sitokinlerin inflamatuvar olaylarda önemli rolü olduğu, son çalışmalarla açıkça gösterilmiştir. Bu sitokinlerden biri olan, İnterlökin-10 (IL-10) inflamasyonun başlangıcındaki olayların kontrolünde önemli rol oynar. Genetiksel çalışmalarda, İL-10 allel taşıyıcılığının koroner arter hastalığı (KAH) riskini arttırabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada amacı IL-10 -592 A/C polimorfizmi ile ateroskleroz arasındaki genetiksel ilişkinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma popülasyonu 124 sağlıklı ve 124 hasta bireyden oluşmuştur. IL-10 genine ait -592 pozisyonundaki bir adet tek nükleotid polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi kullanılarak çalışılmıştır.

Bulgular: Hasta grubu 82 erkek ve 42 kadın bireyden, kontrol grubu ise 54 erkek ve 70 kadın bireyden oluşmaktadır. Hasta grubunda 48 bireyde, kontrol grubunda ise 30 bireyde yüksek kolesterol tespit edildi. Hasta grubunda 66 bireyde, kontrol grubunda 53 bireyde sigara içiciliği tespit edildi. Hasta grubunda 85 bireyde yüksek tansiyon, 46 bireyde diyabet, Kontrol grubunda 35 bireyde yüksek tansiyon, 44 bireyde diyabet tespit edildi, IL-10 -592 A/C polimorfizmi için A allel frekansı kontrol grubunda %70,56 ve çalışma grubunda % 65,72 olarak bulunmuştur. C allel frekansı dağılımı kontrol grubunda % 29,43 ve çalışma grubunda ise % 34,27 olarak saptanmıştır. Koroner arter hastalarının grubunda C alleli frekansı kontrol grubuna göre fazla olmasına karşın, istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Sonuç: Koroner Arter hastalığı olanlarla, kontrol grubu arasında yaş, sigara, diyabet ve hiperkolesterolemi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Koroner Arter hastalığı olanlarla, kontrol grubu arasında Erkek cinsiyette fazla görülmesi ve Hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. CC genotipi taşıyan bireylerin AA genotipi taşıyan bireylere göre Aterosklerotik Koroner Arter hastalığına yakalanma riski 1.91 kat daha fazladır. AA genotipinin AC genotipiyle karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Koroner ateroskleroz; IL-,10gen polimorfizmi; risk faktörleri

SUMMARY

Atherosclerosis is a chronic process that affects the body, medium and large sized arteries. Started by atherosclerosis is one of the most pivotal events in endothelial dysfunction. Endothelium, the decay, while reducing the production of substances that can inhibit atherosclerosis, atherosclerosis increases the production of substances that trigger and increase the tendency to clot. The two fundamental element in this balance deteriorated lead to atherosclerosis, LDL, and allows the passage of monocytes to endothelial below. LDL is oxidized, and at the end of monocytes into macrophages will phagocytose them filled with fat particles in the formation of foam cells occurs in early lesions of atherosclerosis. As a result of this process is triggered by a series of inflammatory events in the environment leads to accumulation of other inflammatory cells and cytokines. Inflammatory processes play an important role in circulating cytokines, recent studies clearly demonstrated. Interleukin-10 (IL-10) plays an important role in the control of inflammation at the beginning. Genetical studies, the allele with coronary artery disease (CAD) might increase the risk has been reported. The purpose of this çalışmanında IL-10 -592 A / C polymorphism and atherosclerosis to investigate the relationship between the genetically. IL-10 gene is a single nucleotide polymorphism at position -592 by PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) method is studied. IL-10 -592 A / C polymorphism of 70.56% for the A allele frequency in the control group and the study group were found to be 65.72%. C allele frequency distribution in the control group 29.43% and 34.27% in the study group, respectively. C allele frequency of coronary artery disease group than in control group, although not statistically significant. ($P = 0.247$ OR = 1.25; CI = 95). In previous studies, IL-10 levels may responsible for this aspect of coronary pathologies have been reported, although inefficient detection of genetic mutation, plasma levels suggests that other regulatory mechanisms could also be affected.

Key words: coronary atherosclerosis, IL-10 gene polymorphisms are risk factors

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
SUMMARY.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vii
RESİM VE ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	4
1.1. Koroner Arter Hastalığı (KAH).....	4
1.2. Ateroskleroz.....	5
1.2.1. Tarihçe.....	5
1.2.2. Tanımı.....	6
1.2.3. Aterosklerozun Fizyopatolojisi.....	7
1.2.3.1. Normal Arter Duvarı	7
1.2.4. Arter Duvarı Elemanları.....	8
1.2.4.1 Endotel Hücreleri	8
1.2.4.2 Düz Kas Hücreleri.....	10
1.2.4.3 Makrofajlar	11
1.2.4.4. Trombositler.....	12
1.2.4.5. T-Lenfositleri	12
1.2.4.6. B-Lenfosit	12
1.2.4.7.Nötrofiller	13

1.2.5. Aterogenezde Rol Alan Adezyon Molekülleri, Sitokinler ve Büyüme Faktörleri	13
1.2.5.1 Adezyon molekülleri	13
1.2.5.2 Sitokinler.....	14
1.2.5.3 Büyüme Faktörleri.....	15
1.2.6. Aterogenezde Temel Basamaklar	16
1.2.6.1. Endotel Disfonksiyonu	17
1.2.6.2. LDL Oksidasyonu	18
1.2.6.3. Köpük Hücre Oluşumu	19
1.2.6.4. Lipid Çekirdeğin (Lipid Core) Oluşumu	20
1.2.6.5. Fibröz Başlık (Fibrous Cap) Oluşumu	21
1.2.6.6. İmmün Mekanizmalar	21
1.2.6.7. Plak Revaskülarizasyonu	22
1.2.6.8. Aterosklerotik Lezyon Tipleri ve Evreleri.....	22
1.2.7. Aterosklerotik Risk Faktörleri	25
1.2.8. Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri	27
1.3. Lipit Peroksidasyon Mekanizmaları ve Oksidatif Stres.....	29
1.4. LDL Oksidasyonu ve Aterogenez.....	30
1.5.Sitokinler	31
2. İNTERLÖKİN-10	33
2.1 IL-10 Sinyal İletimi: Protein ve Reseptör	34
2.2.IL-10 İle Bağlantılı Olan Genler.....	35
2.3. IL-10'un Biyolojik Etkileri.....	36
2.4. IL-10 Geninde Bulunan Polimorfizmler	40

3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	43
3.2. DNA İzolasyonu	43
3.3. Genomik DNA'nın Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi	44
3.4. Agaroz Jel Elektroforezi.....	44
3.5. PZR Amplifikasyonu	44
3.6. RFLP Reaksiyonu	46
3.6.1 Restriksiyon sindirim:	46
4.İSTATİKSEL ANALİZLER	47
5.BULGULAR.....	48
6. TARTIŞMA.....	51
7.SONUÇLAR.....	57
8. KAYNAKLAR	59

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Aterosklerotik Lezyonlarda Bulunan Bazı Sitokinler.....	33
Tablo 2: IL-10'un Anti-inflamatuvar Etkileri	33
Tablo 3: Çalışma ve Kontrol Populasyonlarına Ait Demografik Bilgiler.....	49
Tablo 4: Çalışma ve kontrol populasyonları arasında IL-10 -592 A>C polimorfizminin genotip frekansına bağlı hastalık için risk tahminleri..	50

RESİM VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Resim Listesi

Resim 1: IL-10 Geninin Agaroz Jel Elektroforezinin Elektron Mikroskopisi Görüntüsü	45
---	----

Şekiller Listesi

Şekil 1. Normal arter duvarı kesiti	8
Şekil 2. Temel Ateroskleroz Süreci.....	16
Şekil 3. Endotel Disfonksiyonu.....	18
Şekil 4. Aterosklerotik Lezyon Tipleri	25
Şekil 5. Enfeksiyona Karşı İmmün Cevabın Düzenlenmesinde IL-10'un Rolü. ...	39

SİMGELER ve KISALTMALAR

CRP	:C- Reaktif Protein
AMI	:Akut miyokard infarktüsü
LDL	:Low Density Lipoprotein, düşük dansiteli lipoprotein
PGI-2	: Prostaglandin I-2
MHC	: Major Histokompatibilite Kompleksleri
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
EGF	: Endoteliyal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast growth factor, Fibroblast büyüme faktörü
IGF-1	: Insulin-like growth factor-1, İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
VCAM	: Vascular cell adhesion molecule, vasküler hücre adezyon molekülü
ICAM	: Intercellular cell adhesion molecule, intersellüler adezyon molekülü
vWF	:von-Willebrant faktör
IFN	: İnterferon
PDGF	: Platelet derived growth factor, Platelet kökenli büyüme faktörü
TGF	: Tissue growth factor, doku büyüme faktörü
PDECGF	: Patelet kaynaklı ve endotel hücre büyüme faktörü
TGF-β	: Transforming growth factor beta, Transforme edici büyüme faktörubeta
TNFα	: Tumor necrosis factor alpha, Tümör nekroz faktör alfa
MCP-1	: Monosit/makrofaj kemotaktik protein-1
IL	: İnterlökin
mRNA	: Messenger (iletici) ribonükleik asid
MCSF	: Makrofaj koloni stimüle edici faktör
Ang II	: Anjiyotensin II
AT	: Anjiyotensin reseptörü
NO	: Nitrik oksit
ET	: Endotelin

BSF	: B hücre stimüle eden faktör
kDa	: kiloDalton
MFH	: Mononükleer fagositik hücre
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
SNP	: Single nükleotide polymorphism, tek nükleotid polimorfizmi
DNA	: Deoksiribonükleik asid
OD	: Optik dansite
G	: Guanin
C	: Cytosin
M	: Molar
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asid
TBE	: Tris-Borik asid-EDTA
PZR&PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu&Polymerase chain raction
UV	: Ultraviolet
PFLP	: Restriksiyon Bölümünün Uzunluk Değişkenliği
Bç	: Baz çifti
OR	: Odds ratio
SD	: Standart deviasyon
DKH	: Düz kas hücresi
Tr	: Düzenleyici (Regulatory) T Lenfosit
PCR-RFLP	: Polimerase Chain Reaction- Restriction Fragment Lenght Polymorphism

GİRİŞ

Kalbi besleyen koroner arterlerin (büyük ve orta boyda), beslediği bölgelere yeterli kan taşıyamaması sonucu miyokard'ta oluşan iskemi ve nekrozun, derecesine göre gelişen hastalıklar ve bunların komplikasyonları "Koroner Arter Hastalığı" (KAH) başlığı altında incelenmektedir (1). Koroner Arter Hastalığının esas nedeni, ateroskleroz sonucu koroner arterlerin daralması ve tıkanması olduğu için KAH'nı belirtmek için genellikle aterosklerotik koroner kalp hastalığı (ASKH) ifadesi de kullanılmaktadır (2). Koroner arter hastalığı, endüstrileşmiş toplumlarda en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Koroner Arter Hastalığı günümüzde, dünyada ve Türkiye'de ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizde TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) çalışma sonuçlarına göre KAH sıklığı, 25-45 yaş nüfusta %2,7, 45-74 yaş arasında ise %10,2 olarak saptanmıştır (3). Türk Kardiyoloji Derneği'nin 2000 yılında yayınladığı rapora göre, aterosklerozun neden olduğu KAH ve inmeden kaynaklanan ölümler, tüm ölüm nedenlerinin %43'ünü oluşturmaktadır (4). Koroner arter hastalığının temelinde yatan asıl olay ateroskleroz olup, etiopatogenezinde çok sayıda genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. KAH, koroner kalp hastalığı, inme ve periferik damar hastalıklarını da içine alan farklı hastalık gruplarını kapsar. Bütün bu hastalıkların tümünün altında yatan esas neden aterosklerozdur (5, 6).

Aterosklerozun oluşumunu açıklamaya yönelik birçok çalışma yapılmış ve çeşitli görüşler öne sürülmüştür. Bunlardan, düşük dansiteli lipoprotein (LDL)oksidasyonu hipotezine göre aterosklerozda lezyon oluşumu ve gelişiminden lipid ve protein oksidasyon ürünleri sorumludur. Bu hipotez, in vitrokoşullarda oksitlenmiş LDL molekülünün; kemotaksisin uyarılması, makrofajlarda kolesterol birikimi, endotel hücrelerinde adhezyonmolekülü ekspresyonu ve bazı hücre türlerinin apoptozunda yer alarak proaterojenik bir rolü olduğunu öne sürer (7). Oksidasyonhipotezinin geçerliliği, LDL'nin endotel hücreleri ile teması sonrası makrofajlar tarafından alınımının artmasının,

gösterilmesiyle kanıtlanmıştır (7). Oksitlenmiş LDL'nin hücre içine alınmasında çöpçül reseptörleri aracılık etmektedir(8). Endotel altı yerleşimli makrofajlar, okside LDL'yi kontrolsüz bir biçimde hücre içine alarak, aterogenezde temel rol oynayan köpük hücrelerini meydana getirirler (9). Okside LDL'nin bütün aterogenez sürecinde temel rol oynadığı düşünülmektedir (10, 11). Köpük hücresi arterosklerozun ilk öncü hücresidir(12,13). Okside LDL'de bulunan kollesterol esterleri, hidrolize olur ve serbest kolesterol sitoplazma içine kaçar. Sitolitik enzimler tarafından yeniden esterifiye olur ve kolesterol ester havuzu, makrofaj içinde, intraselüler damlacıklar oluşturmaya başlar. Okside LDL'nin alınımının devam etmesi ile makrofaj, lipid yüklü köpük hücresine dönüşene kadar, bu lipid damlacıkları birikir. Bu süreç temizleyici reseptörler, immün sistemin sitokinleri ve kolesterol dışındaki diğer metabolik faktörler tarafından kontrol edilir. Genel olarak inflamatuvar sitokinler, makrofaj gelişimi ve farklılaşmasını uyaran sitokinlerin reseptör düzeylerini artırır (14,15).

Sitokinler, inflamatuvar ve bağışıklık mekanizmalarının ayarlanmasında merkezi rol almaktadır. Bu sitokinlerden biri olan IL-10 pleiotropik bir sitokindir ve lenfoid ve miyeloid efektör fonksiyonlarının önemli bir düzenleyicisi olduğu bilinmektedir (16,17). IL-10, hücre aracılıklı ve sitotoksik immün cevabı baskılayarak düzenleyici rolünü yapar (18,19). IL-10'un, otoimmüniteye karşı korunmada da önemli rolü olduğu ileri sürülmüştür (20). IL-10 düzeylerinin, Unstabil Anginası olan hastalarda, kronik stabil anginası olan hastalara göre anlamlı olarak düşük olması, IL-10 ile KAH arasındaki ilişkinin bir başka kanıtıdır (21,22). Bir deneysel Apo E modelinde IL-10 yetmezliğinin, plak büyüklüğünü artırdığını göstermiştir (23). IL-10 potansiyel olarak plak stabilize edici etkiye yol açacak şekilde, MMP-9 ekspresyonunu azaltmakta ve TIMP üretimini arttırmaktadır (24). Unstabil anginası olan olgularda CRP yüksek olduğu halde yüksek IL-10 düzeyleri hastaları, iskemik olaylara karşı korunmaktadır (25). Bu nedenden dolayı pro- ve anti-inflamatuvar kuvvetler arasında hassas bir denge bulunmaktadır (26). Aksi yöndeki kontrol mekanizmaların bu tip çalışmaları hemen çürütemeyeceği varsayılarak, IL-10 ekspresyonunun terapötik olarak yararlı olabileceği düşünülmektedir (27). Kararlı ve kararsız anjinalı 1,229 hastanın

alındığı prospektif bir çalışmada yükselmiş IL-18 düzeylerinin ölüm riskini arttırdığı gösterilmiştir (28).PRİME (Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction) çalışmasında 10,600 sağlıklı erkek 5 yıl boyunca koroner olaylar yönünden takip edilmiştir (29).Bu çalışmanın sonucunda, başlangıçtaki CRP, IL-6 ve fibrinojenden bağımsız olarak IL-18 düzeyleri yüksek olanlarda koroner olayların daha fazla olduğu bildirilmiş olup ek olarak CRP'nin IL-10 üretimini azaltırken, IL-18 üretimini artırdığı rapor edilmiştir (30).Th1 sitokinlerinin, tip 1 DM'un başlama ve ilerlemesine neden olduğu,Th2 sitokinlerinin (IL-4, IL-6 ve IL-10) ise bu süreci önlediği önerilmiştir (31).IL-10 geni polimorfiktir ve bu polimorfizm farklı bireylerde üretilen sitokin düzeylerinde nicel farklılıklara neden olur (32).Bu nedendir ki IL-10 promotör bölgesi polimorfizmi, koroner arter hastalıklarına genetik yatkınlığın moleküler temelini oluşturabilir (33). Bu bilgilerden yola çıkılarak bu tez çalışmasında, Türk toplumunda IL-10 promotör bölgesinde – 592 (C/A) pozisyonlarında bulunan polimorfizmin sıklığı ve bu polimorfizmin KAH ile bağlantısının araştırılması amaçlanmıştır. Bu polimorfizm ile KAH arasında bir ilişkinin bulunması durumunda hastalığın patogenezinde IL-10'un etkisi ile ilgili yeni bilgiler elde edilebilecektir.2008 yılında yaptığımız çalışmamızda, SİVAS bölgesinde İL-10 (-592 C/A) gen polimorfizminin KAH olan hastalardaki rolünü araştırmayı ve kontrol grubu sonuçları değerlendirerek sağlıklı bireylerde İL-10 (-592 C/A) gen polimorfizminin görülme sıklığını belirlemeye çalıştık. ÇalışmamızınKAH ve risk faktörleri üzerine Türkiye'de yapılan diğer çalışmalardan, genetik risk faktörlerinin çalışılması ve Türkiye'de bu konuda yapılan çalışmalara da yardımcı olması bakımından faydalı bir kaynak olacağını düşünüyoruz.

GENEL BİLGİLER

1.1. Koroner Arter Hastalığı (KAH)

Koroner arter hastalığı kalbin etrafını çevreleyerek kalp kasını besleyen koroner arterlerin tıkanıklığına ya da daralmasına verilen addır. Tıkanmanın ya da daralmanın miyokartta oluşturduğu iskemi ve nekrozun, şiddetine göre gelişen hastalıklar ve bunlardan meydana gelen komplikasyonlar KAH başlığı altında incelenmektedir (1). KAH'nın esas nedeni ateroskleroz ve ateroskleroz sonucunda gelişen koroner arter stenozu ve tıkanması olduğu için KAH'nı belirtmek için genellikle aterosklerotik koroner kalp hastalığı ifadesi de kullanılmaktadır (2). Koroner arter hastalığı ölümcül bir hastalık olması, çeşitli komplikasyonlara (sakatlık, iş gücü kaybı vb.) yol açması ve genellikle orta yaş gruplarında görülmesi nedeni ile önemli bir toplum sağlığı sorunudur (34,35). KAH tüm ölümlerin %33-50'sinin, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise %50-75'inin nedenidir (34). Amerika Birleşik Devletleri ve Batı Avrupa ülkelerinde hastalıktan korunma ve tedavi yöntemlerindeki gelişmeler sonucu son 30 yılda koroner kalp hastalığı ve ölüm oranında bir azalma olmuştur. Amerika Birleşik Devletleri'nde KKH'na bağlı ölümler son 20 yılda eskiye göre bir azalma göstermiştir ama buna rağmen genel ölüm nedenleri arasında halen birinci sıradaki yerini korumaktadır. Yılda yaklaşık 500 binden fazla kişi bu nedenle ölmektedir. Amerikalıların %3,1'inde (7 milyon) aktif koroner arter hastalığı vardır. Kuzey Amerika, Avustralya, Belçika, Finlandiya, Japonya gibi endüstri ülkelerinde 1960'lı yılların sonlarında KAH mortalitesinde önemli yükselme olmuş, sonradan azalmıştır. Rusya, İsveç ve Doğu Avrupa ülkelerindeki KAH'na bağlı ölüm oranı ise halen artmaktadır.

KAH , en önemli hastalık ve ölüm nedenidir.(34). Hastalık ve ölümün yanı sıra iş gücü kaybı ve tedavi giderleri bakımından topluma maliyeti çok yüksek bir hastalıktır (36). KAH, endüstrileşmiş ülkelerde en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer alır. KAH nedeniyle her yıl milyonlarca kişi yaşamını kaybetmekte, dünyada ve Türkiye'de ölüm nedenleri arasında ilk sırayı almaktadır. Ülkemizde yaklaşık 1.200.000 kalp hastası vardır ve yılda 130.000

kişinin bu nedenle öldüğü tahmin edilmektedir. Onat ve arkadaşları (3) tarafından gerçekleştirilen TEKHARF kohort çalışmasına göre, ülkemizde erişkin nüfusta KAH prevalansının % 2,7 ve 45-74 yaş arasında prevalansın %10,2'yi aştığı görülmüştür. Türk Kardiyoloji Derneğinin 2000 yılında yayınladığı rapora göre ülkemizde, aterosklerozun neden olduğu KAH ve inmeden kaynaklanan ölümler, tüm ölüm nedenlerinin %43'ünü oluşturmaktadır (4). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre koroner kalp hastalığı 2020 yılında da tüm dünya ülkelerinde ölüm nedenleri arasında ilk sırada olmaya devam edecektir (37).

1.2. Ateroskleroz

1.2.1. Tarihçe

Ateroskleroz ile ilgili bilimsel çalışmalar ve araştırmalar yaklaşık 150 yıldır bilim adamlarınca yapılmaktadır. 1845 yılında ilk kez patolog Vogel, ateroskleroz plağında kolesterolü tespit etmiştir (38). 1856 yılında bir Alman patolog olan Rudolf Virchow, aterosklerotik lezyonların arteriyal intimal tabakada, plazma bileşenlerince meydana getirilen inflamatuvar proliferatif bir sürecin sonucu olduğunu öne sürmüştür. Bir başka Alman patolog olan Rokitansky ise aterosklerotik lezyonların arteriyel yüzeylere yapışan trombüslerin organize olmaları sonucu olduğunu belirtmiştir (39, 40). Ondokuzuncu yüzyıl sonlarında Osler, aterosklerotik plağın dejeneratif bir sürecin kaçınılmaz sonucu olduğunu belirtmiştir (41). 1913 yılında Anitschkow ve Chalataw aterosklerotik plaklarda kolesterol kristallerini saptayarak kolesterolün aterosklerozu tetikleyebileceği hipotezi ile deney tavşanlarında insandakine benzeyen aterosklerotik lezyonlar saptamışlardır (42).

Birkaç yıl sonra Starokodonsky ve Sobolew, aortanın uğradığı mekanik hasarların, ateroskleroz benzer intimal lezyonlara yol açtığını göstermişlerdir (43). 1950'lerde Florey ve arkadaşları, intimal zedelenme ve oluşan endotel hasarının (de-endotelizan hasar) intimal lipit ve makrofaj birikimine yol açtığını göstermiştir (43). 1974 yılında Ross ve arkadaşları, arteriyel hasarın arter duvarına yapışmış trombosit ve diğer hücrelerden, lokal olarak platelet kaynaklı büyüme

faktörü salınımına (PDGF) yol açtığını, bunun da ateroskleroza yol açacak düz kas hücre proliferasyonunu başlattığını göstermiştir (44, 45). Brown ve Goldstein'in LDL reseptörlerini ve kolesterol metabolizmasının mekanizmasını bulması kolesterol hipotezinin, etkin farmakolojik ve genetik araçlarla test edilmesine olanak sağlamıştır (46). Deneysel örneklerde ve insanlarda, serum kolesterolü (LDL) ve artereoskleroz arasında direkt bir bağlantı olduğu açıkça saptanmıştır. Genleri yok edilmiş veya inaktive edilmiş farelerde, lipit metabolizması bozukluklarının patogenezi ve genetik hastalık modelleri daha iyi anlaşılmıştır.

1.2.2. Tanımı

Ateroskleroz, gelişmiş batı dünyasında en sık görülen ölüm nedenidir ve ciddi morbiditeye neden olur. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre yakın gelecekte tüm dünyada ölümlerin birinci nedeni ateroskleroz olacaktır. Ateroskleroz, elastin arterlerin (aorta, karotis ve iliak arterler) ve büyük ve orta çaptaki musküler arterlerin (koroner ve popliteal arterler) hastalığıdır. Koroner kalp hastalığı, inme ve periferik damar hastalıklarını da içine alan birçok farklı hastalık grubunu kapsar. Fakat bütün bu hastalıkların tümünün altında yatan esas neden aterosklerozdur (5, 6). Ateroskleroz terimi Yunanca "athero" (bulamaç) ve "sclerosis"den (sertleşme) köken alır. Ateroskleroz, arteriyel intimal duvarların kronik, dejeneratif, ilerleyici ve multifaktöryel bir hastalığıdır. Ateroskleroz çeşitli organlara kan akımının bozulmasına yol açar(47). Tipik lezyonu "aterom" veya "plak"tır. Koroner arterlerde aterosklerotik plakların oluşumu ile vasküler lümeninde daralma, damar esnekliğinde kaybolma ve bunun sonucunda da kan akımında azalmaya bağlı olarak iskemi gelişmektedir.

Aterogenezde anahtar rol oynayan intimal kalınlaşma ve lipit birikmesi sıklıkla orta-büyük çaplı elastik arterleri tutar. Ateroskleroz, fetal yaşamda başlayan karışık inflamatuvar bir süreçtir. Çocukluk ve ergenlik döneminde yavaş bir ilerleme gösterir; erişkin yaşamda ise daha hızlı bir progresyona ulaşarak yüksek morbiditeye ve ölümlere yol açar (48).

1.2.3. Aterosklerozun Fizyopatolojisi

Aterosklerozun fizyopatolojisi oldukça karışıktır. Ateroskleroz, kan damarlarının subendotelyal aralığında, arter duvarının tüm yapısal elemanları, trombosit, lökosit, makrofaj ve özellikle monosit gibi çeşitli inflamatuvar hücreler ile lipit ve lipoproteinlerin birikimini içeren kronik ve inflamatuvar bir hastalıktır (5, 6). Bu süreçte merkezi rol oynayan damar endoteli, arteriyel duvar ve kan dolaşımı arasında aktif bir geçiş bölgesidir. Aterosklerozdaki süreç belirgin olarak intimada sınırlı olmasına rağmen, arter duvarının diğer tabakalarında hastalıktan etkilenir.

1.2.3.1. Normal Arter Duvarı

Normal bir arter duvarı üç tabakadan oluşur, normal arter duvarı kesiti şekil 1'de verilmiştir. Arter duvarı ve dolaşan kan arasında bariyer oluşturan en iç tabaka (lümeni çevreleyen tabaka) Tunika intimadır. Tunika Media, kalın kas tabakasından oluşur, intima tabakası, medya tabakasından internal elastik membran ile ayrılır. Tunika Adventisya ise bağ dokusu tabakasıdır ve çevre organların bağ dokusu ile birleşir. Adventisya, arter duvarın en dış tabakasıdır. Gevşek bir bağ dokusu yapısındaki bu tabaka, boyuna dizilmiş kollajen liflerden, vazo vazorumlardan ve sinir uçlarından oluşur (49).

İntima kalınlığının en fazla olduğu bölgeler arterlerin çatallanma yerleri ve yan dalların ağız kesimleridir. Kan akımına uyum nedeniyle oluşan bu kalınlaşma, damar lümenini daraltmaz. Ancak ateroskleroz daha çok bu bölgelerde oluşur. Bu nedenle arter yatağının birçok yerinde var olan intima kalınlaşmalarının hepsinin aterosklerotik lezyonlara dönüşmemesi nedeniyle, bunları, aterosklerozun ön değişiklikleri yerine ateroskleroza uygun bölgeler olarak tanımlanmaktadır.

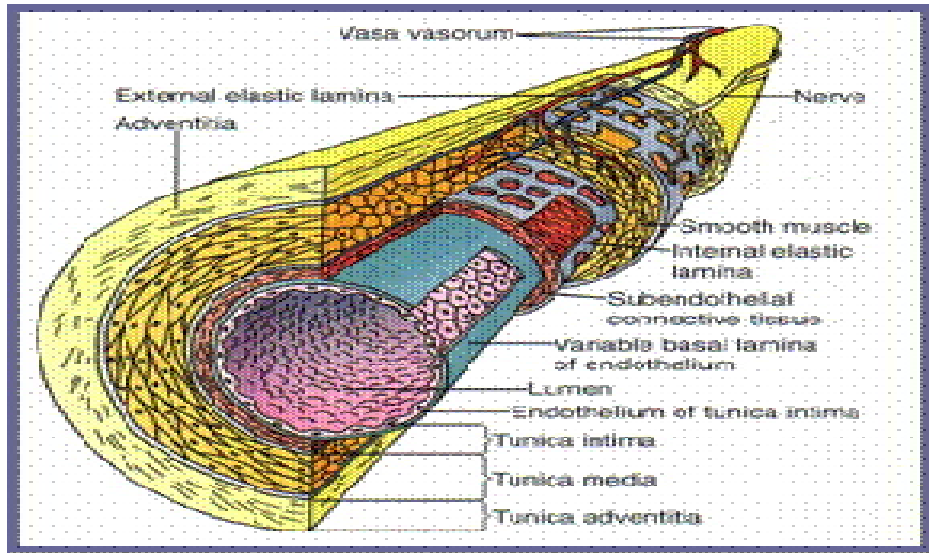
Bu yaklaşım ile bakıldığında arter yatağının, ateroskleroza uygunluk derecesine göre üçe ayrıldığı görülür (49).

1. Aterojenik lipoprotein düzeyleri çok yüksek olmadıkça lipit birikmesinin görülmediği kesimler: Kan akımının mekanik özellikleri nedeniyle

intima kalınlaşmasının bulunmadığı arterler ve göğüs aortunun inen kesimin ön yüzü bu duruma örnek verilebilir.

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

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



Şekil 1. Normal arter duvarı kesiti

1.2.4. Arter Duvarı Elemanları

1.2.4.1 Endotel Hücreleri

Endotel hücresi, bariyer oluşturmak ve kan-arter permeabilitesini kontrol etmek üzere özelleşmiş, tek sıra biçiminde dizilmiş hücrelerden oluşmaktadır. Üç önemli fonksiyonu vardır; kan-doku geçirgenliğini sağlamak, damar tonusunu kontrol etmek ve hemostaz ve enflamasyona göre damar yüzeyini düzenlemek.

Normal endotel oldukça seçici ve geçirgendir. Trombüs oluşumuna karşı koyan bir yüzey ve çok sayıda vazoaktif madde ile bağ dokusu yapılarının üretiminden sorumlu metabolik olarak etkin bir dokudur (50). Endotel; parakrin veya endokrin hücreler gibi toksik kimyasal ve oksitleyici maddelerle reaksiyona girerek çeşitli maddeleri sentezleyebilirler. Bu maddeler; adhezyon molekülleri, koagülasyon faktörleri, fibrinolitik maddeler, anjiyotensin II (AT-II) ve endotelin-I gibi vazokonstriktör ajanlar, nitrik oksit (NO) gibi vazodilatör maddeler, büyüme faktörleri ve prostaglandinlerdir (51, 52). Endotel hücreleri arasındaki bağlar normalde albüminden daha büyük moleküllerin geçişine izin vermeyecek kadar sıkıdır. Lipoproteinler albüminden çok daha büyük olduğundan endotel engelini ancak transsitoz ile (plasmalemma vezikülleri aracılığıyla) geçebilirler. Bu mekanizma lipoproteinlerden bağımsızdır ve kandaki lipoprotein düzeyi ile ilişkilidir. Endotel zedelendiğinde (bu engel özelliğinin bozulduğunda) lipoproteinlerin subendoelyuma geçişinin hızlandığı öne sürülmektedir. Ancak aterosklerozun gelişimini hızlandıran esas basamağın serbest lipoprotein girişi değil, oksidasyon gibi daha sonra gelişen olaylar olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (53). İntimaya yerleşen lipoprotein moleküllerinin ilk oksidasyonu da yine endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilir.

Okside LDL'nin oluşması aterogenezde bir dizi zincirleme olayı tetikleyen ilk basamaktır (54).Hasar görmemiş olan endotel yüzeyi, heparan sülfatla kaplı olması nedeniyle, ayrıca salgıladığı prostasiklin (PGI₂) ve NO'ye bağlı olarak trombüs oluşumuna dirençlibir yüzey oluşturmaktadır. PGI₂ kuvvetli bir vasodilatatör ve trombosit agregasyoninhibitörüdür.

NO, endotelin koruyucu işlevinde önemli rol üstlenmektedir. PGI₂ güçlüantiagregan etkisi ile trombositlerin endotel yüzeyinde kümeleşmesini engellemektedir. Anti-inflamatuvar özelliği ile de aterosklerozu her evrede engelleyici bir etki göstermektedir. NO ise adhezyon moleküllerinin endotel yüzeyinde belirmesini, lipitlerin endotel geçişini ve DKH'in proliferasyonunu önlemektedir (55, 56, 57). Ateroskleroz oluşumunu hızlandıran, hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara içilmesi ya da süperoksit düzeyinin arttığı durumlarda

endotelden NO yapımın azaldığı ya da yıkımın arttığı gösterilmiştir. Endotel hücreleri ayrıca plazminojen de dâhil olmak üzere fibrin yıkıcı ürünlerde salgılamaktadır. Bununla beraber, prokoagulan etkileri de olan ve von Willebrand faktörü gibi pıhtılaşma faktörleri de salgılayan endotelin, bu özelliğinin sadece yaralanma durumunda açığa çıktığı düşünülmektedir (58). Endotel hücrelerinin bir başka önemli özelliği de tek katlı olmaları ve iyileşirken bu özelliklerini korumak zorunda olmalarıdır. İntima tabakasında olduğu gibi, endotel hücreleri de kan akımının özelliklerine göre biçimsel değişiklikler gösterirler. Laminar akımın egemen olduğu damar kesimlerinde elips biçimindedirler. Buna karşılıklı dallanma yerleri ya da yan dal ağzları gibi akımın hızlandığı ve girdaplar oluşturduğu kesimlerde çok köşeli bir yapı gösterirler. Bu yapısal değişiklik LDL-kolesterolün (LDLK) endoteli daha kolay geçmesine olanak sağlar (59). Aynı zamanda, endotel hücreleri aterogeneizde rol oynayan çok sayıda maddenin ve bağ dokusu elemanının sentezinden sorumludur. Bunlar arasında, endotelin, angiotensin dönüştürücü enzim gibi vazoaktif aminler, PDGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörleri ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve interlekin-1 (IL-1) gibi endotel proliferasyonu inhibe eden maddelerde bulunmaktadır (54).

1.2.4.2 Düz Kas Hücreleri

Düz kas hücresi, arterlerde en fazla bulunan hücre tipidir. DKH'nin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın oluşumu sırasında medyadan intimaya geçen bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde görev alırlar. Bu yüzden DKH'nin intimada birikmesi, ilerlemiş aterosklerotik lezyonun bir göstergesi olarak kabul edilir (37). Düz kas hücre kültüründe kontraktıl ve sentetik olmak üzere iki ayrı fenotip tanımlanmıştır. Birinci grup, yoğun miyofibriller içeren kontraktıl fenotiptir. Bunlar medya tabakasında yerleşiktirler, endotelin, katekolamin, AT-II gibi vazokonstriktörlere ve prostaglandin E, PGI₂, NO, nöropeptidler ve lökotrienler gibi vazodilatörlere yanıt verirler. Bununla birlikte PDGF gibi mitojenlere karşı yanıtızdırlar (54).

Sentetik fenotip, aterosklerotik lezyonlarda bulunan gruptur ve kontraktıl fenotipin aksine vazoaktif maddelere yanıt vermez iken, PDGF gibi mitojenler tarafından uyarılarak lezyonun proliferatif aşamasında aktif rol alırlar. Bazı proteinlerin salgılanmasından ve bağ dokusu elemanlarının sentezinden sorumludurlar (60). DKH'in hasarlanan endotelden salgılanan maddelere yanıt verip oraya göç etmeleri, nitelik değiştirip onarım için gerekli glikozaminoglikan, elastin ve kollajen gibi proteinleri salgılamaları bu düşünceyi doğrulamaktadır. DKH ayrıca, makrofajlar gibi lipoproteinleri fagosite edip kolesterol esterleri şeklinde depolayarak köpük hücre oluşumuna katkıda bulunurlar (61).

1.2.4.3 Makrofajlar

En yoğun olarak buldukları yerler, kan akımını kompanse etmek için kalınlaşmış intima tabakasının olduğu kesimlerdir. Bu evrede, makrofajlar genellikle lipit damlacıkları içermemekle birlikte, kan kolesterol düzeyi çok yüksek kişilerde genç yaşlardan başlayarak köpük hücrelerine dönüşebilmektedirler (62). Makrofajlar, dolaşımdaki monositlerden türeyen fagositik hücrelerdir. Her inflamatuvar olayda olduğu gibi, aterosklerotik plakta da yoğunlukla bulunurlar ve okside LDL parçacıklarının uyarısı ile oluşan bazı kemotaktik maddeler monositlerin kandan intimaya geçişini sağlamaktadır. Bunlar arasında en iyi bilineni makrofaj kemotaktik protein-1 (MCP-1)'dir (44). Dokuya geçen monosit, monosit koloni sitümüle edici faktör (M-CSF)'ün etkisi ile makrofajlara dönüşür. M-CSF'de, yine okside LDL'nin uyarısı ile endotel hücrelerinden salgılanır. Makrofajlar, lezyona yerleştikten sonra, birçok vasoaktif madde sekrete ederek, yeni makrofajların gelmesini, DKH, fibroblastların çoğalmasını ve bağ dokusu sentezini uyarırlar. Köpük hücre oluşturan asıl hücreler makrofajlardır. Daha önce endotel tarafından başlatılan LDL parçacıklarının oksidasyonu makrofajlar tarafından tamamlanır Makrofajlar çöpçül reseptörleri aracılığı ile okside LDL'yi fagosite edip parçalarlar. Oluşan kolesterol bileşikleri, kolesterol esterleri şeklinde depolanır. Ancak hücrenin kolesterol yüklenmesi ile çöpçül reseptörlerde bir down-regülasyon mekanizması

olmadığından depolanma süreci devam eder ve hücrenin ölümüne dek sürer. Böylelikle lipit damlacıkları ile dolan makrofajlar “köpükhücrelerine” dönüşür (54). Aterosklerotik plaktaki makrofajlar, plak üzerindeki endotelin sıyrılması ile kana karışır ve dalak ve lenf düğümleri tarafından dolaşımdan temizlenir (63).

1.2.4.4. Trombositler

Kararlı koroner arter hastalıklarında, trombosit-monosit kümelerinin gösterilmesi ve trombosit yüzeyinde inflamasyonun bir göstergesi olan CD40L saptanması, bu hücrelerin büyük olasılıkla aterogenezde rol oynadığını düşündürmektedir. Yüksek katekolamin düzeyi, stres ve sigaranın trombosit agregasyonunu artırarak, bu mekanizmayı hızlandırdığı düşünülmektedir (64.65.66.67.68.69).

1.2.4.5. T-Lenfositleri

Aterosklerotik lezyonlarda hem CD4+ hem de CD8+ hücrelerin bulunması, aterosklerozun patogenezinde bağışıklık sisteminin, belkide otoimmünitinin rol oynayabileceği fikrini doğurmaktadır.

Yapılan bazı çalışmalar, bağışıklık sistemini aktive eden temel antijenlerden birinin okside LDL olabileceğine ilişkin kanıtlar ortaya konmuştur (70).

1.2.4.6. B-Lenfosit

Ateroskleroza olan insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda okside LDL'ye karşı dolaşımda otoantikorların tespit edilmesi ve aterosklerotik lezyonlarda immünglobulinlerin bulunması, B-lenfositlerin de ateroskleroz patogenezinde rol aldığını düşündürmektedir. Ateroskleroz patogenezinde T ve B

lenfositlerine ait veriler karışık da olsa, çalışmaların çoğunda hücresel immünitinin ateroskleroza karşı koruyucu bir rol oynadığı ifade edilmiştir (71).

1.2.4.7.Nötrofiller

Nötrofiller insanda akut ve kronik ateroskleroz sürecinde nadiren saptanmıştır. Sistemik inflamasyon ve akut koroner sendrom (AKS) arasında güçlü bir ilişki olmasına karşın, aterosklerotik lezyonda nötrofiller fazla dikkat çekmemiştir. Naruko ve ark. (72) insanda AKS'a yol açan plaklarda nötrofil infiltrasyonunu kanıtlamışlardır.

1.2.5. Aterogenezde Rol Alan Adezyon Molekülleri, Sitokinler ve Büyüme Faktörleri

1.2.5.1 Adezyon molekülleri

Normal endotel hücrelerinin yüzeyinde adezyon molekülleri çok az bulunurlar. Normal endotel hücreleri, özellikle ürettikleri NO aracılığı ile lökositlerin tutunmasına direnç gösterirler. Buna karşılık, endotel fonksiyonlarının bozulması ile birlikte hücrelerin yüzeyinde daha çok adhezyon molekülleri belirlemeye başlar (up-regülasyon). İmmünoglobulin üst ailesinden olan vasküler hücre adezyon molekül-1 (VCAM-1) ve hücreler arası içi adezyon molekül-1 (ICAM-1) gibi adezyon molekülleri lökositlerin endotel hücrelerine daha kolay tutunmasını sağlamaktadırlar. Yapılan hayvan deneylerinde aterosklerotik besinlerle (yüksek kolesterol içeren besinler) beslenen tavşanların, endotel yüzeyinde artmış VCAM-1 düzeyleri gözlenmiştir (73, 74). Endotel hücre yüzeyinde bulunan VCAM-1 ve ICAM-1 ayrıca düz kas hücre yüzeyinde de bulunmaktadır. Bu moleküller aracılığı ile DKH'leri lökositlerinden etkilenir; göç ve proliferasyonu uyarılır (75). Lökositlerin endotele geçişine adezyon moleküllerinden sadece VCAM-1 ve ICAM-1 değil, bunun yanı sıra E-selektinler de aracılık etmektedir. Selektinler, diğer adezyon moleküllerinin aksine,

proteinler yerine karbohidrat ve glikopeptidlere bağlanırlar. TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerin uyarısı ile endotel hücre yüzeyindeki selektin yoğunluğu artmaktadır. Hücre yüzeyinde artan E-selektin lökositlerin hücre yüzeyine tutunmasını, oradan da subendotelyal bölgeye göçünü sağlamaktadır (76, 77,78). Glikoprotein yapısında olan integrinler hücrelerin birbirlerine ya da çevresindeki yapılara sıkıca tutunmalarını sağlamaktadırlar. Plakkomplikasyonu sonucunda aktifleşen olan trombositlerin endotel hücrelerine, endotel altı yapılara ve birbirlerine tutunmasında rol oynayan Glikoprotein Iib/IIIa reseptörleri integrin yapısındadır (76)

1.2.5.2 Sitokinler

Sitokinler, aterosklerozun başlamasında,adezyon moleküllerinin endotel yüzeyindeki miktarlarını arttırmada ve aterom plağın komplike olmasında rolalmalarından dolayı aterosklerotik sürecin hemen her evresinde önemli bir yer sahiptirler.

İnterlökin-1 β (IL-1 β) ve TNF- α gibi sitokinler endotel hücrelerinde VCAM-1'in ekspresyonunu arttırarak monosit ve lenfositlerin endotel altı tabakaya göçünüarttırarak aterosklerotik plağın oluşumuna yol açmaktadırlar.

Aterom plağında bulunduğu gösterilen diğer bir sitokin olan MCP-1, daha fazla sayıdaki monositi plağın olduğu bölgeye çekmektedir (73). İnsanda, MCP-1'in, aterosklerotik plaklarda diğer kesimlerine göre aterosklerotik plaklarda çok daha yoğun olduğu gözlenmiştir (79).

Lezyonda bulunan T-lenfositlerin salgıladığı interferon gamanın (INF- γ) ise DKH"lerin apoptozisine neden olduğu ve bunun sonucu olarak plağın komplike olmasında önemli rol oynadığına inanılmaktadır (80, 81). IL-1 β ve TNF- α makrofajları aktifleştirerek, matriks metaloproteinaz salgılanmasını uyarmaktadırlar (50, 51).

Aterogenezdeki rolü tartışmasız kabul edilen nükleer faktör kapa B"nin (NF- κ B)inflamasyonun tetiklemesinde önemli bir katkısının olduğu belirlenmiştir. NF- κ B,gerekli transkripsiyonu sağlayarak MCP-1 üretimini arttırmakta ve aynı zamandamatriks metaloproteinaz genlerinin aşırı düzeyde etkinleşmesini sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda, insan damarlarında aktif NF- κ B'nin bulunduğu gözlenmiş ve düzeyi ile aterosklerozun yaygınlığı arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır (82).

Nükleer transkripsiyon faktörlerinden olan peroksizomal proliferatör-aktiveedici reseptörlerin (PPARs) aterosklerotik süreçte önemli rol oynadığı gösterilmiştir.Aterosklerozlu olgularda PPARs sayısının arttığı belirlenmiştir. PPARs"ın etkinleşmesi sonucunda ise endotel hücrelerinde NO sentaz enzimi ve adezyon moleküllerinin düzeyini, monositlerin makrofajlara dönüşüm hızlarını, makrofajlarda çöpçül reseptör sayısını, makrofaj apoptozisi ve plaktaki çeşitli sitokinleri etkileyerek aterogeneze katkıda bulunmaktadır (83).

1.2.5.3 Büyüme Faktörleri

a) Platelet Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF): Trombositlerin α -granüllerinde depolanan oldukça güçlü bir mitojendir. Proliferatif yeteneği olan bütün hücrelerietkileyebilme özelliğine sahiptir. Mitojenik etki gösterdiği hücrelerde aynı zamandakemotaktik etki de göstermektedir. Bu mitojenle karşılaşan DKH, hem proliferolurlar ve hem de bağ dokusudentezini arttırır (54, 84).

b) Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF): Makrofajlar, endotel ve DKH zedelenmesisonucu salınır. Bu hücrelerde hücre hasarı oluştuğunda açığa çıkan FGF hem DKH hem de endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyarmaktadırlar (54, 84)

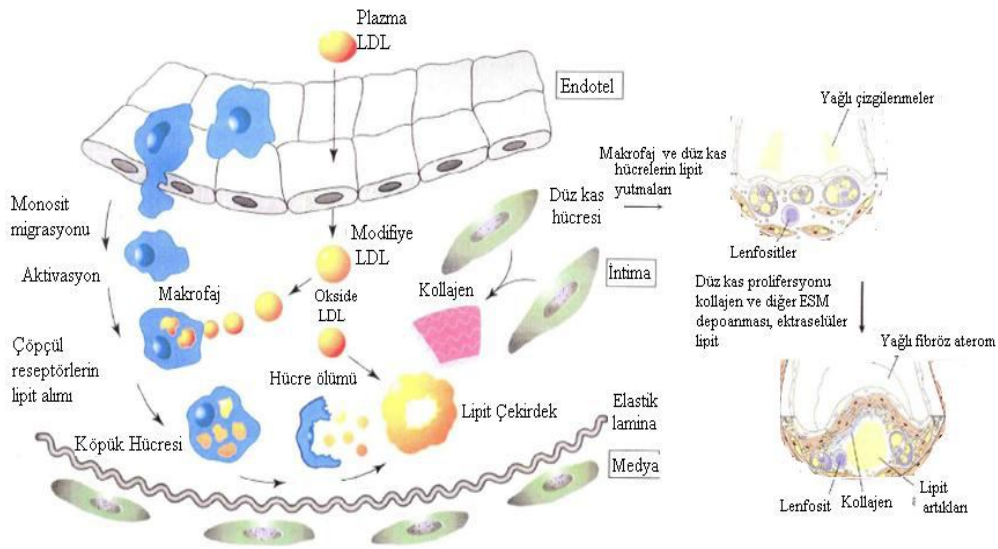
c) Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β): Endotel hücreleri, trombositler,bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından salgılanır. TGF- β

kollajen, proteoglikan ve elastik lif proteinleri gibi bağ dokusu sentezini uyaran en güçlü ajandır (54, 84).

d) Heparin Bağlayıcı Epidermal Büyüme Faktörü (HB-EGF): DKH'leri ve aktive edilmiş makrofajlardan salgılanır. Düz kas için en az PDGF kadar güçlü mitojenik bir ajan olan HB-GF'nin aterosklerozdaki yeri henüz araştırılmaktadır (54, 84).

1.2.6. Aterogeneze Temel Basamaklar

Aterosklerotik süreç basamakları Şekil 2'de (85) verilmiş olup ateroskleroz oluşum, gelişim ve sonuç verme süreçleri tüm olgularda benzerlik gösterir ve çeşitli basamaklar içerir. Aterosklerotik basamaklar endotel disfonksiyonu, LDL oksidasyonu ve köpük hücre oluşumu, lipid çekirdeği oluşumu, fibröz başlık oluşumu, immün mekanizmalar ve plak revaskülarizasyonu gibi basamaklara ayrılabilir.



Şekil 2. Temel Ateroskleroz Süreci (85)

1.2.6.1. Endotel Disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu, aterosklerozun patogenezinde bilinen ilk temel basamağı oluşturur. Yapılan çalışmalarda, KAH açısından aile anamnezi pozitif olan ancak koroner arterleri normal veya çok az hasarlı bireylerde, aile anamnezi pozitif olan fakat başka risk faktörü bulunmayan asemptomatik genç erişkinlerde (86), tip II diyabetlilerin birinci derece akrabalarında (87) ve insüline bağımlı diyabeti olan hastalarda endotel disfonksiyon varlığı gösterilmiştir. Tıkaçıcı olmayan hafif düzeyde KAH'lıların olan bir başka çalışmada, ciddi endotel disfonksiyonu saptanan grubunun saptanmayan gruba göre anlamlı derecede daha yüksek Mİ, kardiyak ölüm ve revaskülarizasyon gibi kardiyak olaylar gösterilmiştir (88).

Endotel disfonksiyonu varlığının KAH'nı öngördüğü ve KAH'da endotel disfonksiyonunun kötü prognoz göstergesi olduğu da bilinmektedir. Bunlara ek olarak, sigara içenlerde, yaşlı kişilerde, menopozdaki kadınlarda, hipertansiyonlu kişilerde ve hiperhomosistinemisi bulunan olgularda da endotel fonksiyon bozukluğu saptanmıştır (89, 90). Aynı zamanda, inflamasyon varlığında ya da yüksek okside-LDL parçacıklarının varlığında da endotel disfonksiyonunun geliştiği belirlenmiştir (91).

Fonksiyonu bozulmuş endotel hücresi bariyer özelliğini yitirdiğinden, lipoproteinmoleküllerinin subendotel dokuya geçişi hızlanmaktadır. Vasoaktif maddelerindengesinin bozulması trombojenik ve aterojenik bir ortam oluşturmaktadır. Endotel disfonksiyonunun bir başka sonucu da inflamasyona eğilimin artmasıdır (54).

Normal endotel fonksiyon bozukluğu kendini aşağıdaki durumlarla gösterir;

- a) Endotele bağımlı vazodilasyon bozulur (92).
- b) NO yapımı ve salgılanması azalır ve sonucunda trombosit agregasyonu kolaylaşır(93).
- c) Endotelin düzeyi artar ve vazokonstriksiyon gelişir (94).

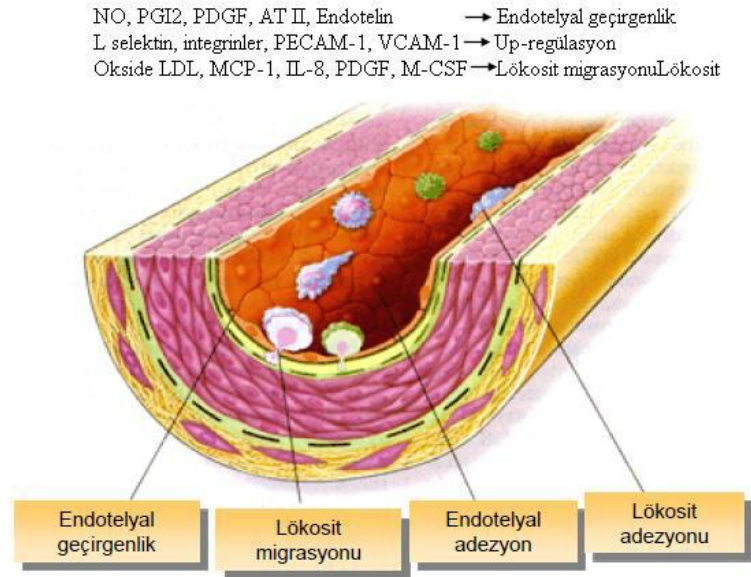
d) Endotel hücrelerinde, yıkımın azalması nedeni ile asimetrik dimetilarjinin düzeyi artar ve bu da NO sentezini inhibe eder (95).

e) Yüksek kolesterol düzeyi, endotelden serbest oksijen radikallerinin salgılanmasından dolayı olur ki, bunlar da NO'ye bağlanarak aktivitesini bozar (96).

f) Hücre yüzeyinde VCAM-1, ICAM-1 ve platelet/endotel hücre adezyon molekülü(PECAM-1) gibi adezyon moleküllerinin düzeyi artar ve endotel disfonksiyonunun olduğu bölgelerde lökositlerin tutunmasını kolaylaştırır (54, 84).

g) PGI₂ üretimi azalması, endotel hücresine bağlı protein kinaz C etkinleşmesinde azalma ile tromboplastin üretiminin ve platelet aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) salgılanmasının artmasına ve trombus oluşumuna eğilim artması ile sonuçlanır (84).

Endotel disfonksiyon oluşumu Şekil 3'te (97) gösterilmiştir.



Şekil 3. Endotel Disfonksiyonu (97)

1.2.6.2. LDL Oksidasyonu

Kronik hiperlipidemide dolaşımdaki LDL endotel hücreleri tarafından oluşturulan engeli geçerek, endotel altında birikmeye başlarlar. Bu

birikim sonucunda LDLendotel, DKH ve makrofajlar tarafından okside olur. Okside LDL,,nin makrofajlartarafından fagosite edilmesi çöpçül reseptörler aracılığı ile olmaktadır. Bu şekildemakrofajlar içine alınan LDL kolesterol esterlerine dönüşerek birikir ve köpük hücreoluşumunu başlatır (98, 99).

Okside LDL"nin aterogenezdeki etkileri başlıca;

- a. Çöpçül reseptörlerce tanınarak makrofajlar tarafından fagosite edilir.
- b. Dolaşımdaki monositler için kemotaktiktir.
- c. Endotelde adezyon moleküllerinden VCAM-1 ve ICAM-1 üretiminiarttırarak monosit velenfositlerin damar duvarına yapışmasının kolaylaştırır.
- d. Plaktaki makrofajların motililitesini inhibe ederek, lezyonda makrofajsayısını arttırır.
- e. Bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımı uyarır.
- f. İmmünojeniktir ve antikor oluşumunu tetikler

1.2.6.3. Köpük Hücre Oluşumu

Endotel hücrelerinde LDL molekülünün ilk modifikasyonu ile minimal modifiyeLDL oluşmaktadır. Minimal modifiye LDL daha sonra makrofajlardan salgılananlipooksijenaz, reaktif oksijen türleri (ROS) ve malondialdehit etkisi ile tekrar okside edilir (100). Bu aşama köpük hücre oluşumu için bir başlangıçtır. Çünkü okside LDL için başta makrofajlarda olmak üzere, DKH'lerinde de bulunançöpçül reseptörler tarafından daha kolay tanınabilecek şekilde değişmiştir (101, 102).

Böylelikle makrofajlar okside LDL parçacıklarını fagosite ederek parçalar ve kolesterol esterleri biçiminde depo ederler. Fagosite edilen okside LDL hücre içerisinde yıkılır, açığa çıkan serbest kolesterol esterifiye edilir ve depolanır. Sonuçta köpük hücre oluşur. Makrofaj köpük hücreleri ise TNF- α ve

metalloproteinazlar gibi inflamatuvar sitokinler ve prokoagulan faktörler salgırlarlar (103).

Erken evredeki lezyonlarda lipit çoğunlukla hücre içerisindedir. Ancak hücre dışı aralıkta da lipit damlacıklarının bulunduğu elektron mikroskopisi ile gösterilmiştir (54).

1.2.6.4. Lipid Çekirdeğın (Lipid Core) Oluşumu

Aterosklerotik sürecin bu aşamasında lezyon dışında da lipit birikmeye başlar. Ekstrasellüler lipidin olası iki kaynağı vardır. Dolaşımdaki LDL'nin doğrudan doğruya intima tabakasındaki proteoglikanlara bağlanması ya da köpük hücrelerin apoptotik sürece girerek (depolanmış kolesterol esterlerini) hücre içeriğıyle dışarı salmasıdır. Ekstrasellüler lipit birikiminin de başlıca kaynağı olarak apoptotik köpük hücre yıkımı gösterilmektedir (54). Köpük hücre oluşumunda rol alan iki hücre tipi vardır. Bunlar DKH ve makrofajlardır. Ancak ileri lezyonlarda DKH proliferasyonunun oldukça sınırlı olduğu gösterilmiş, bu da hücrelerin uzun ömürlü olabileceğini düşündürmektedir (54).

Fakat bu şekilde makrofaj artışı yani kontrolsüz artışın engellenmesi fikri apoptotik sürecin makrofajlarda daha hızlı olduğunu düşündürmüş ve yapılan çalışmalar bu fikri destekler niteliktedir (104). Makrofajların ölümünde, LDL oksidasyonu sonucunda oluşan peroksitlerin de etkisi olmakla beraber, asıl mekanizma apoptozisdir (104). Apoptotik sürecin oluşumunda MCSF gibi büyüme faktörlerindeki azalmaya ek olarak TNF- α 'nın da rolü bulunmaktadır (54). Sonuç olarak lipit çekirdek intima tabakasının bağ dokusu yapısı içerisindeki kolesterol ve hücre yıkım ürünleri ile dolu bölgesidir ve bu aşamada henüz lipit çekirdeğın üstünde fibrotik bir yapı bulunmamaktadır (54).

1.2.6.5. Fibröz Başlık (Fibrous Cap) Oluşumu

Olgunlaşmış aterom plağında lipit çekirdeğinin üstü fibröz bir başlıkla kaplıdır. Fibröz başlık yoğunlukla DKH ve onların ürettiği bağ dokusundan oluşur (54). Lezyonun yaşı ilerledikçe içerdiği DKH sayısı da artmaktadır. DKH'nin medyadangöçü ve proliferasyonu, PDGF ve FGF gibi büyüme faktörleri aracılığı ile gerçekleşir. Bu faktörler aterogeneizde rol alan hemen her hücre tarafından üretilirler ve aynı zamanda göç ve proliferasyonu da uyarırlar.

TNF- β güçlü bir bağ dokusu yapıcısı olmasına karşın, bugünedek bulunan en güçlü DKH inhibitörüdür. TNF- β , aktif makrofaj ve trombositlerden salgılanmaktadır. Uyarıcı ve baskılayıcı bu maddeler arasındaki etkileşim, DKH'nin proliferatif cevabını belirlemektedir (54). Bugün artık fibröz başlığın dinamik bir yapı olduğu bilinmektedir. Bir yandan DKH tarafından kollajen yapımı sürerken, diğer taraftan proteazlar tarafından sürekli bağ dokusu yıkımı olmaktadır (100). Lipit çekirdek ve onun etrafında yer alan fibröz başlıktan oluşan bu ilerlemiş aterosklerotik lezyona "fibroaterom" adı verilmektedir. Lipit çekirdek ve fibröz tabakanın lezyondaki miktarı plağın kırılabilirliğini belirleyen esas etkindir. Fibröz başlık ne kadar kalınsa, plak o kadar stabil ve ne kadar ince ise plak o kadar kırılabilir ve zedelenebilir (105, 106).

1.2.6.6. İmmün Mekanizmalar

Plaklarda T-lenfositlerin bulunduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerin görevi büyük olasılıkla interferon salgılayarak DKH proliferasyonunu düzenlemektir (54). Lenfositler ise plakların yapısında bulunmamasına rağmen, adventisya çevresinde bol miktarda bulunmakta ve okside LDL'ye karşı antikor üretmektedirler. Bu antikorların plazmadaki düzeyi ölçülerek, aterosklerotik olayın aktivitesi ve yaygınlığı belirlenebilmektedir (70).

1.2.6.7. Plak Revaskularizasyonu

Normal medya damarsız bir yapıdır. Ancak plak kalınlaştıkça, damar lümeninde taşınmakta olan oksijenin diffüzyonu ile damar duvarını beslemesi olanaksızlaştığından, adventisya tabakasından lezyonun tabanına doğru yönelen yeni damarlanmalar görülür (107). Yeni bulgular plak damarlanması ile komplikasyonu arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Komplike olmuş plaklarda yeniden damarlanma, olmamışlara göre çok daha fazla olduğu saptanmıştır (108).

1.2.6.8. Aterosklerotik Lezyon Tipleri ve Evreleri

Aterosklerotik lezyonların gelişim ve morfolojik değişim dönemlerine göre üçüncü sınıf altında toplanmaktadır. Bunlar, yağlı çizgi, yaygın intima kalınlaşması ve fibröz plaktır (47).

a) Yağlı çizgi: Aterosklerozun en erkengörülen lezyonlarıdır. Makroskobik olarak damar lümeninde sarı alanlar olarak görülürler. Bu görünümün asıl nedeni endotel altında biriken, içleri yağ damlacıkları ile dolu olan köpük hücrelerdir (109).

Koroner ve sistemik arterlerdeki yağlı çizgilerin yerleşimi ile ileri evre aterosklerotik lezyon yerleşimlerinin aynı olması, bu lezyonların bir bölümünün ilerlediklerinin kanıtı olarak kabul edilmektedir (54).

b) Yaygın intima kalınlaşması: İntima, bağ dokusu ile çevrelenmiş DKH'den oluşan bir yapıdır. Makrofajlar, T-lenfositler, hücre dışı lipit birikintileri diğer elemanlarıdır (54).

c) Fibröz Plak: Aterosklerotik lezyonların en ileri biçimidir. Kalsifikasyon içerirler ve trombus ve/veya hemoraji ile birlikte bulunur ise komplike lezyondan söz edilir (54). Makroskobik olarak beyaz renklidir. Lümeneye doğru genişleyen bu lezyonlar lümeni kan akımını engelleyecek kadar daralttıklarında klinik bulgu verirler (54). Fibröz başlıktaki DKH'leri ekstrasellüler matriks yapma yeteneğine

sahip onarıcı fenotiplerdir (77, 110). Fibrözbaşlıkta DKH dışında, kollajen fibrilleri, elastin, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar da bulunur (111). Fibröz başlığın bütün plak hacmine oranı klinikdurumları belirlemede önemli bir etmendir (61).

Amerikan Kalp Birliği (American Heart Association) plakların dinamik yapıyasahip olmasından dolayı yukarıda yapılan lezyonların makro ve mikroskobisine göre yapılan sınıflandırmayı yeterli görmeyerek ateroskleroz lezyonlarının tanım ve evrelerini tanımlamış ve lezyonları altı tip ve beş evreye ayırmışlardır (112). Aşağıda Amerikan Kalp Birliğinin yaptığı lezyonların tipine (85) ve evrelerine göre ayırım ise Şekil 4'te (85) gösterilmiştir.

Evre-1 Küçük bir lezyondur ve genellikle 30 yaşın altında görülür. İlerleyicidir. Tip I, II ve III lezyonlar bu evrede görülürler.

Tip I lezyon, içi yağ damlacıkları ile dolu makrofaj kökenli köpük hücrelerden oluşan ilk lezyondur.

Tip II lezyonda makrofaj sayısı artmıştır ve katlar oluştururlar. Makrofajların yanı sıraDKH'lerinden oluşmuş köpük hücreler de bulunmaktadır. Tip I ve II lezyonlar intimada sarı noktalar ya da çizgiler şeklinde görülebilirler. Tip I ve II lezyonlar puberteden itibaren hemen her bireyde görülmeye başlanır. Ancak lezyonlar çok küçük oldukları için klinik bulgu vermezler. Bir bölümü geriler ya da yaşam boyu aynı seviyede kalırlar (20, 45, 54, 112).

Tip III lezyon, aterom diye nitelenen ilk lezyon olan tip IV ile II arasında bir geçiş lezyonudur. Tip III lezyonda DKH, bağ dokusu, fibriller ve tip II'den en önemli ayırt edici yan olarak yağ birikintileri bulunur. Bulezyonda intimanın yapısı bozulmaya, DKH birbirinden ayrılmaya ve proteoglikanların yerini kalıntılar almaya başlar (112).

Evre -2 Bu evrede artık bir aterom plağı oluşmuştur. Histolojik olarak temel özellikler birbirine benzeyen bu plaklar damar lümenini kritik düzeyde daraltmayabilir. Ancak intimanın temel yapısı bozulmuştur. Lipit içeriğinin fazla

olması nedeniyle bu plak atherosklerotik olmaya uygun hale gelmektedir. Bu evrede tip IV ve Va olmak üzere iki tip lezyon görülür.

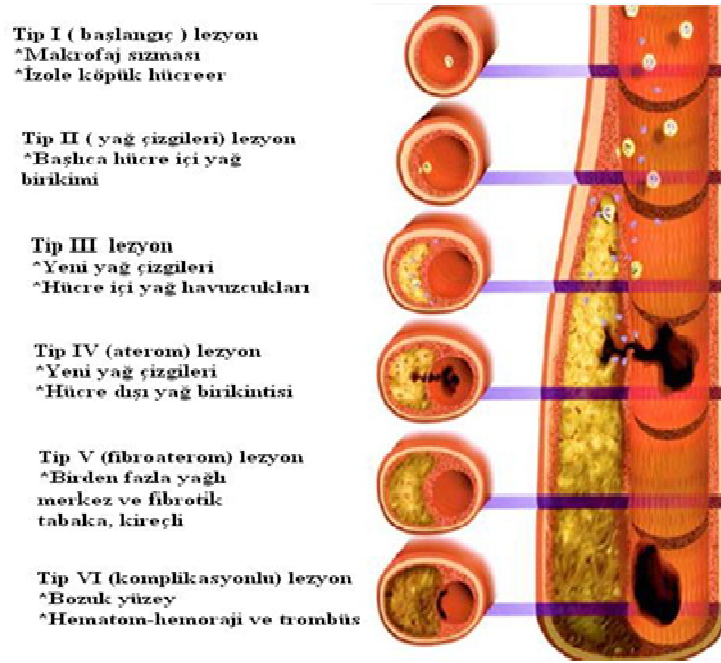
Tip IV lezyonda yukarıda sıralanan hücreselelemanlar yanında fibröz bir doku ile karışmış miktarda hücre dışı lipit birikintileri vardır.

Tip Va'da ise ortada hücre dışı yağdan oluşan lipit çekirdek ve bunun üzerinde ince fibröz bir yapı vardır. Evre -2 akut faz olarak tanımlanan evre 3 ve 4'e ilerleyebilir bunun sonucunda da fibrotik evre olan evre 5'e dönüşebilir (112).

Evre -3 Akut komplike olmuş tip VI lezyonları içerir. Tip IV ya da Va lezyonların hasar görmesi ile oluşur. En dışta yer alan endotel tabaka bozulabilir ve üzerine trombüs oturabilir. Trombüs damarı tıkayabilir (112).

Evre -4 Bu evrede de evre 3'te olduğu gibi akut komplike olmuş tip VI lezyonlar vardır. Evre 3 ile arasındaki fark duvardaki trombüs büyüklüğüdür (112).

Evre - 5 Bu evrede, evre 3 ve 4'te görülen tip IV lezyonların yüzeyinde oluşan trombüs bir hasar oluşturmuştur. Hasarın onarımı ya da dışarıda oluşan trombüsün organize olması halinde plağın boyutu büyür ve daha tıkayıcı olabilir (Damar lümeninde kritik düzeyde daralma oluşturarak angina pektorisene neden olurlar). İskemik dönemde etkili bir kollateral dolaşım oluşur ise klinik bulgu vermeden sessiz kalabilirler (112).



Şekil 4. Aterosklerotik Lezyon Tipleri (85)

Amerikan Kalp Birliği aterosklerotik lezyonları altı tipe ayırmıştı. AmerikanKalp Birliği'nin bu sınıflamasına 2003 yılında iki tip daha eklenmiştir (62).

1.2.7. Aterosklerotik Risk Faktörleri

Risk faktörlerinin tanımlanması ve bunların tedavisi asemptomatik kişilerdekoroner kalp hastalıklarının önlenmesi (primer koruma) ve belirlenmiş hastalığı olan kişilerde tekrarlayan olayların önlenmesi (sekonder koruma) için gereklidir. Risk faktörlerinin araştırılmasına ilişkin sistematik çalışmalar, yaklaşık olarak yüzyılın ortalarında başlamıştır. Prospektif, halk tabanlı “Framingham Kalp Çalışmaları”, hiperkolesterolemi, hipertansiyon ve diğer faktörlerin kardiyovasküler riskle ilişkili olduğunu destekleyen önemli kanıtlar sağlamıştır. Gözleme dayanan benzer çalışmalar ABD’de gerçekleştirilmiştir ve geniş çapta yapılan yaygın, bağımsız araştırmalar kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri kavramını desteklemiştir (47).Ulusal Kolesterol Eğitim

Programı'nın (NCEP) 2001'de yayımlanan III. Yetişkindedavi panelinde (ATP III), KAH risk faktörleri Şu şekilde sınıflandırılmıştır (113).

Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri (NCEP ATP III)

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

2. Nonlipid risk faktörleri

A. Modifiye edilebilen risk faktörleri

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

B. Modifiye edilemeyen risk faktörleri

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

Koroner Arter Hastalığı için Bağımsız Risk Faktörleri (NCEP ATP

III)

1. Yaş (erkeklerde ≥ 45 , kadınlarda ≥ 55)
2. Ailede erken koroner kalp hastalığı öyküsü
3. Sigara içiyor olmak
4. Hipertansiyon (Kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg veya antihipertansif ilaç kullanımı)

5. Düşük HDL kolesterol (HDL <40 mg/dl)

6. Yüksek LDL kolseterol (LDL \geq 130 mg/dl)

*HDL > 60 mg/dl ise risk hesaplamalarında bir risk faktörü çıkarılır (Çünkü HDL kolesterol yüksekliği KAH riskini azaltır).

Koroner kalp hastalığı riskinin, bilinen risk faktörleri dışında, önemli bir bileşenide Genetik yatkınlıktır (115). Koroner kalp hastalığının risk modifikasyonundaki gözlenen çok az başarıya karşın, spesifik genetik predispozan faktörlerinin tanımlanmasında küçük bir ilerleme kaydedilmiştir.

1.2.8. Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri

Bugün en fazla kabul gören teoriler arasında;

a) Hemodinamik bozukluklar teorisi:

1950 yılında önerilen hemodinamikbozukluklar teorisi, türbülan akım ve shear stresin aterosklerotik lezyonların gelişmesinde sorumlu olduğunu ileri sürmektedir. Shear stres ve türbülan akımınarteriyel bölgelerin dallanma, ayrılma ve bükülme bölgelerinde değişiklikler göstermesi bu vasküler bölgelerde lezyon oluşumlarında önemli bir rol oynamaktadır. Türbülan akım değişimleri endotel disfonksiyonu, endotel hücre geçirgenliğinin artışına ve endotele lökosit adezyonuna neden olur. Endotel bariyerindeki bu bozulma, içeriye kolesterolce zengin lipoproteinlerin girişine de sebep olmaktadır. Bu değişimler, sitokinler, adezyon molekülleri, koagülasyon proteinleri gibi bazı önemli moleküllerin gen ekspresyonlarında da değişimlere neden olmaktadır (59). Aterom plaklarının sıklıkla bulunduğu yerler dallanma, çaprazlanma ve dönme bölgelerinin olması bu teoriyi desteklemektedir (63).

b) Hasara yanıt hipotezi:

Bugün hala aterosklerotik sürecin nasıl başladığı tam olarak anlaşılammıştır. Bu anlamda en fazla kabul gören görüş Ross (45) tarafından ortaya atılan hasara tepki (“response to injury”) hipotezidir. Bu hipotezde anahtar olay endotel hasarıdır. Oluşan hasar, lökosit ve trombositlerin endotele

adezyonunu artırır ve lokal vasküler antikoagulan çevreyi prokoagulan bir çevreye dönüştürür. Toplanan lökosit ve trombositler, sitokin, vazoaaktif ajanlar ve büyüme faktörlerini salgırlar ve intima içerisine DKH migrasyonunu ve onların proliferasyonu ile karakterize olan inflamatuvar cevabı arttırlar (45). İnflamatuvar cevabın bir diğerkomponenti arter duvarı içerisine makrofajların toplanmasıdır. Bu makrofajlar LDL-K partiküllerini alarak içi lipit dolu köpük hücrelerini oluştururlar. Lipit birikimi ve köpük hücre oluşum süreci inflamatuvar yanıtla devam eder. Süregelen inflamasyon olayını, sitokin, büyüme faktörleri ve proteolitik enzimlerin salınımı ile birlikte olan hücrenel nekroz izler. Lezyonun oto-katalitik olarak genişlemesiyle lezyon lümeneye doğru ilerler ve sonunda kan akımını bozar (45).

c) Retansiyona yanıt hipotezi:

Bu hipoteze göre ateroskleroza başlatan olaylipoprotein retansiyonudur. Arter duvarına lipoprotein retansiyonu, ekstrasellüermatriks komponentleri ile sıkı olarak bağlantılı gibi görünmektedir. Özellikle, apoB-100 içeren lipoproteinlerin, damar duvarına birikiminin inflamatuvar kaskadı tetiklediği düşünülmektedir (114).

d) Oksidatif modifikasyon hipotezi:

Ateroskleroza oksidatif modifikasyon hipotezi, Goldstein ve ark. (116) kültüre makrofajların kimyasal olarak modifiye olmuş oksideLDL-K varlığında lipit yüklü hücrelere dönüştüğü görüşü ile ortaya çıkmıştır. Modifiye LDL-K"ün in vitrodüz kas hücresi ve endotel hücrelerinde MCP-1"ün sentezini arttırdığı gösterilmiştir. Okside LDL-K, monosit ve lenfositler için kemotaktiktir. Okside LDL-K'ün DKH'nin proliferasyonunu uyardığı bilinmektedir. Ayrıca okside LDL-K, endotelyal hücreler gibi bir takım hücreler için sitotoksiktir.

1.3. Lipit Peroksidasyon Mekanizmaları ve Oksidatif Stres

1. Oksidatif stres: Oksidatif stres, oksidanların üretimi ve organizmanın bu ürünlere karşı savunma mekanizmaları arasındaki dengenin oksidanlar lehine değişmesidir. Radikal oluşumu hücre tiplerine göre değişiklik göstermesine rağmen, tüm aerobik hücrelerde belirli düzeyde radikal oluşmaktadır. Oksidan moleküller birçok yolla oluşabilir. Örneğin, iyonizan radyasyon, kimyasal reaksiyonlar, enzimatik olarak serbest metal iyonlarının rol aldığı redoks reaksiyonları ya da enzimlere bağlı metal iyonları oksidatif ürünler oluşturabilirler (117). Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller, süperoksit anyonu ve hidroksil radikalidir. Lipit peroksidasyonunda hidroksil radikalinin daha etkili olduğu kabul edilmektedir (117).

2. Lipit peroksidasyonu ve mekanizmaları: Biyolojik hasarla karakterize radikal reaksiyonlar arasında en belirgin olanı lipit peroksidasyonudur. Hücre membranlarının oksijen radikallerine maruz kalması lipit peroksidasyon reaksiyonlarını uyarır (118). Peroksidasyona en duyarlı olanlar doymamış yağ asitleridir. Biyolojik sistemlerde oksitleyici radikalın süperoksit anyonu ($O_2\bullet$) ve hidroksil radikali ($OH\bullet$) olduğu kabul edilmektedir. (119, 120).

3. LDL Oksidasyonunda Rol Oynayan Etkenler

a) Lipooksijenaz: Makrofaj, endotel hücreleri ve DKH'lerinde bulunan lipooksijenazlar, PUFA'ları direkt olarak okside eder. Özellikle LDL'nin yapısında bulunan yağ asitlerine etki gösterir (126, 127)

b) Nitrik oksit: NO endotel hücrelerinden salgılanır ve arterlerde vasküler tonusu etkiler. Süperoksitle birleşerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Ayrıca, asidik ortamda NO'dan oluşan ara ürünler de LDL oksidasyonunu hızlandırır (129).

c) Metal iyonları: LDL partikülünün oksidasyonunda genellikle metal iyonları rol oynar.

Doku ve hücre kültürlerinde metal bağlayan iyonların kullanılması ile LDL oksidasyonunun azaldığı gösterilmiştir. (120, 121, 122, 123, 124).

d) Myeloperoksidaz: Makrofajlar, hidrojen peroksidi kullanarak kloru hipoklorikaside, L-tirozini tirozil radikaline çevirerek etki ederler (128).

e) Tiyoller: Tiyollerin otooksidasyonuyla süperoksit radikalleri oluşur ve metal iyonlarının varlığında, LDL partikülleri oksitlenir. L-sisteinin disülfid formu olan Lsistin içermeyen hücre kültürlerinde süperoksit oluşumu ve LDL oksidasyonu inhibe olmaktadır (125).

f) Glukoz: Glike proteinler ve glukoz, metal iyonları aracılığıyla LDL oksidasyonunustimüle ederler (130).

1.4. LDL Oksidasyonu ve Aterogenez

Endotel hücreleri lipoprotein lipaz, kolesterol esteraz, lipooksijenaz gibi enzimleri içerir.

LDL'nin içerdiği kolesterol esterlerinin hidrolizi ile serbest kolesterol ve serbest yağ asitleri oluşur. Lipooksijenazların etkisiyle serbest yağ asitlerininoksidasyonu gerçekleşir (131).

LDL oksidasyonu hipotezine göre aterosklerozda lezyon oluşumu ve gelişiminden lipit ve protein oksidasyon ürünleri sorumludur. Oksidasyonun asıl hedefi intimada bulunan LDL parçacığdır. Bu hipotez, in vitroşartlarda oksitlenmiş LDL molekülünün proaterojenik özelliklerinin bulunmasıyla desteklenmiştir. Bu özellikler kemotaksisin uyarılması, makrofajlarda kolesterolbirikimi, endotel hücrelerinde adhezyon molekülü ekspresyonu ve bazı hücre türlerinin apopitozudur (7).LDL oksidasyonu aterogenezde kilit rol oynar. Araşidonik asidin non-enzimatik peroksidasyonu ile isoprostanlar gibi prostaglandin benzeri bileşikler oluşur. LDL'de meydana gelen bütün bu yük ve konfigürasyon değişiklikleri partikülün makrofajlar tarafından alınımı kolaylaştırır(7). Oksitlenmiş LDL'nin hücre içine alınması çöpçül reseptörleri aracılığı ile olur (8).Bu reseptörler hücre içindeki kolesterol düzeyi tarafından regüle edilmez ve subendotelyal yerleşimli makrofajlar okside LDL'yi kontrolsüz bir biçimde hücre içinealarak köpük hücreleri meydana getirirler. Çöpçül

reseptörleri bulunmayan farelerde aterosklerozun gelişiminin yavaşladığı bildirilmiştir (9).

1.5.Sitokinler

Sitokinler çözümlü (salgılanan) proteinler veya glikoproteinler olup özel reseptör ligandlarına bağlanarak sinyal iletimi ve ikincil haberci yolları başlatır ve hedef hücrelerin aktivitesini kontrol eder veya ayarlarlar. Sitokinler pleiotropik bir gruptur ve vücutta birçok organ sistemini etkilemektedir. Aterosklerozda rol oynayan sitokinlerle ilgili bilgiler Tablo 1’de belirtilmiştir. Çeşitli sitokinlerin büyük derecede etkileşiminden bir ağ oluşur. Bu etkileşim gen aktivasyonu veya baskılaması ile sonuçlanır. Sitokinler; interleukinler, interferonlar ve tümör nekrozis faktör gen ailesini içermektedir (132).

Ayrıca son zamanlarda yeni sitokinler (başlıca interleukin-10 homologları) tanımlanmıştır (133). Sitokinler birkaç özelliğe göre sınıflandırılabilir. Bu sınıflandırma bazen onları üreten hücre tipine göre yapılır. Bununla birlikte en yaygın olan sınıflandırma sisteminde, sitokinler, Th1 (pro-inflamatuvar sitokinler, TNF- α ve interleukin-1 gibi) ve Th2 (anti-inflamatuvar sitokinler, interleukin-10 ve interleukin-4 gibi) olmak üzere iki gruba ayrılır.

Bu sınıflandırma sadece bir genellemedir ve bazı sitokinler (IL-6 gibi), etkileşime karışan hücre tipine göre hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar etki gösterebilir.

İmmün sistemde sitokin uyarımına verilen farklı yanıt, Th1/Th2 dengesini kontrol edebilir. Bu dengenin her iki yönde de bozulması birçok immün ve enfeksiyonel hastalığın kliniğini önemli derecede etkilemektedir(132).

Sitokin üretiminde görülen bireysel farklılıkların, ilgili genlerin alelik polimorfizmine bağlı olduğu sanılmaktadır. Tek veya çift yumurtalı ikizler ve akraba olmayan bireylerde bulunan farklılıkların araştırılması sitokin salınımlarında kalıtsal farklılıkları ortaya çıkarmıştır(134). İn vitro hücre kültüründe, sitokinler

açısından görülen bireysel farklılıklar kısmen bu genlerin mikrosatellit veya tek nükleotit polimorfizmine bağlanmıştır(135).

Bu gibi değişiklikler bazı hastalıklara yatkınlıkla bağlantılı olup hastalığın şiddeti ve ilerlemesine katkıda bulunabilir(136). Son zamanlarda sitokin vesitokin reseptör gen polimorfizmleri ve bu polimorfizmlerin immün dengeyi nasıl etkilediği bilimsel ilgi odağı olmuştur (132).

Sitokinler ve ilgili reseptörlerin yüksek derecede polimorfik olduğu gösterilmiştir(137).

Bu polimorfizmler; tek nükleotit polimorfizmler (SNPs), değişken sayıda ardışık tekrar (VNTRs) polimorfizmleri ve mikrosatellit polimorfizmleri olmak üzere üç biçimde görülür (132,138).

Sitokinler ve reseptörlerinin genlerinde bulunan polimorfizmlerin büyük çoğunluğu promotör, intron ve 3' translyasyona uğramayan bölgelerde yer almaktadır.

Genin translyasyona uğramayan bölgelerindeki bu dizi değişiklikleri yine de gen ifadenmesi ve işlevini etkileyebilir. Promotör polimorfizmi transkripsiyon düzenleyici elementleri bozar veya durdurabilir(132).

Sitokin polimorfizmi genellikle hastalığa yatkınlıktan ziyade hastalığın etiolojisini etkilemektedir. Belirli bir polimorfizm büyük ihtimalle; özgül belirtiler, sonuçlar veya tedavi sürecine özel reaksiyonlar ile karakterize olan bir hasta alt grubunu tanımlar.

Sitokinlerin pleiotropizmi ve 3 etkili oldukları geniş ağ sistemi göz önüne alınırsa bu hiç şaşırtıcı değildir(132)

Tablo 1: Aterosklerotik Lezyonlarda Bulunan Bazı Sitokinler

Aterosklerotik lezyonlarda bulunan bazı sitokinler			
İmmün regüle edici	İnterferon - gamma	T Hücreler, NK hücreler	Makrofaj aktivasyonu, inflamasyon, endotel veya düz kas aktivasyonu, NO üretimi
	IL-2	T hücreleri	T hücre proliferasyonu
	IL-4	Th2 hücreleri	Alerjik reaksiyonlar, B hücre aktivasyonu, T hücre proliferasyonu
	IL-12	Makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	Th1 yanıtı indükler
	IL-10	Makrofaj, T hücreler	Th2 uyarısı, Th1 inhibisyonu
Proinflamatuvar	TNF-alfa	Makrofaj, Th1 hücreleri, düz kas hücreleri	Adezyon molekülleri, büyüme faktörleri, nitrik osid sentezi, pro koagulan
	IL-1	Makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	T hücre aktivasyonu
	IL-6	Makrofaj, T hücresi, endotel ve düz kas hücresi	Akut faz reaktanı, B hücre aktivasyonu
Kemokinler	MCP-1	Makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	Monosit ve T hücrelerini çeker.
	IL-8	Makrofaj, T hücresi, endotel ve düz kas hücresi	Granülositleri çeker.
Büyüme Faktörleri	PDGF	Trombositler, makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	Düz kas hücre proliferasyonu
	FGF	Endotel ve düz kas hücresi	Düz kas ve endotel hücre proliferasyonu
	VEGF	Makrofaj, düz kas hücresi	Endotel hücre proliferasyonu
	TGF-beta	Trombositler, makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	Fibrojenik, antiinflamatuvar
	M-CSF	Makrofaj, T hücresi, endotel hücresi	Monosit diferansiyasyonu
	G-CSF	Makrofaj, T hücresi, endotel hücresi	Monosit ve granülosit diferansiyasyonu

2. İnterlökin-10

İnterlökin-10 (IL-10), ilk başta Th2 hücrelerinden salgılanan ve sitokin sentezini önleyen faktör (Cytokine Synthesis Inhibitory Factor, CSIF) olarak tanımlanmıştır (183). Ancak daha sonra; Th1 hücreleri, Tr1 hücreleri, B hücreleri, monositler, makrofajlar, keratinositler ve birçok tümör hücresini de kapsayan geniş bir hücre grubu tarafından üretildiği gösterilmiştir (139). IL-10, aktive

edilmiş makrofaj/monosit fonksiyonlarının geniş bir yelpazesini (örneğin monokin sentezi, NO üretimi, klas II MHC, IL-12 ve CD80/CD86 gibi moleküllerin ifade edilmesini) önler(20). Üstelik IL-10; anti-inflamatuvar ve immüno-supresif bir molekül gibi davranarak IL-2, IFN- γ ve TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretim ve salınımında önler(17,139).

2.1 IL-10 Sinyal İletimi: Protein ve Reseptör

IL-10 Proteini

Biyolojik olarak işlevsel olan insan IL-10'u (hIL-10), 160 amino asit uzunluğunda iki polipeptit zincirinden oluşan 36 kDa ağırlığında bir dimerdir (133,140,141). IL-10, altı amfipatik sarmaldan (A-F) oluşan iki alt birimin birbirine girmiş dimeridir. IL-10 alt birimlerinin yapısı, iki molekül içi disülfid köprü aracılığı ile kararlı hale gelir: Cys12 – Cys108 ve Cys62 – Cys114 (133,142).

IL-10 Reseptörü

IL-10'un biyolojik etkileri, IL-10 reseptör kompleksi aracılığı ile gerçekleşir(143). Bu kompleks, IL-10 reseptör 1 (IL-10R1, IL-10R α) ve IL-10 reseptör 2 (IL-10R2, IL-10R β) olmak üzere iki alt birimden oluşmaktadır(20). Her iki zincir de ekstraselüler, transmembran ve intraselüler (sitoplazmik) bölgelerden oluşmuştur (144,145).

IL-10R1

IL-10R1, liganda bağlanan alt birimdir ve yüksek afinite ile cIL-10'a bağlanır. Veriler IL-10R1'in moleküler ağırlığının 90–120 kDa olduğunu göstermiştir (20,140,145).

IL-10R2

IL-10R2 (IL-10R β) reseptör kompleksinde sinyal iletimi için aksesuar bir alt birim olarak görev yapmaktadır. IL-10R2, IL-10'un bağlanma afinitesine çok az katkısı vardır. (146,147).

Sinyal İletimi

Jak/stat sistemi, IL-10 sinyali iletiminde en iyi tanımlanmış olan yoldur. IL-10/IL-10R etkileşimi, Jak tirozin kinazlar ailesinden olan Jak1 ve Tyk2'yi kullanır(15,148). IL-10; tirozin fosforilasyonunu ve stat 3, stat 1 ve (makrofaj olmayan hücrelerde) stat 5 transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu indükler(149,150).

2.2.IL-10 İle Bağlantılı Olan Genler

Son zamanlarda, IL-10'un birkaç viral ve hücreli gen homologu bulunmuştur (133,152-155). "IL-10 ailesi" adı altında toplanan bu homologlar ailesi, iki büyük gruba ayrılır: viral homologlar (vIL-10) ve hücreli homologlar (cIL-10) (133).

Viral homologlar

Viral homologlar, Epstein Barr Virüs (EBV), at herpesvirüs tip2 (EHV2), orf parapox virüs (OV), insan ve simian sitomegalovirüs (CMV) ve yaba-benzer hastalık virüsünün (Yaba-Like Disease Virus, YLDV) genomunda bulunur(133). Viral IL-10'lar arasında cmvIL-10, eşsiz özelliklere sahiptir. cmvIL-10, hIL-10'a sadece % 27'lik benzerlik göstermesine rağmen, IL-10R kompleksi aracılığı ile hücreye bağlanır ve sinyal iletimi yapar (156).Bu gözlemler, vIL-10'ların, hücrelerden almış oldukları cIL-10 genlerini taşıdığını ve daha sonra virüs ve konakçı arasında etkileşim gereksinimlerine uygun olarak evrim geçirdiğini önermektedir(15).

Hücreli homologlar

IL-19(157), IL-20(158), IL-22 (159,160), IL-24, IL-26 (133,161), IFN λ 1, IFN λ 2,IFN λ 3 (IL-29, IL-28A, IL-28B)'yi içeren hücreli homologlar, IL-10'a daha az amino asit dizi benzerliği gösterirler ve hem IL-10'dan hem de birbirlerinden biyolojik işlev açısından farklı (133) ancak açıkça yapısal akrabalık gösteren proteinlerdir (5). Bu proteinler ve IL-10'un diğer akrabalarının biyolojik etkileri tam olarak bilinmemektedir(20).

2.3. IL-10'un Biyolojik Etkileri

Sitokinler inflamatuvar ve başışıklık mekanizmalarının ayarlanmasında merkezi rol almaktadır. IL-10 pleiotropik bir sitokindir ve lenfoid vemiyeoid efektör fonksiyonlarının önemli bir düzenleyicisi olduğu bilinmektedir (16,17). IL-10, hücre aracılıklı (cell-mediated) ve sitotoksik immün cevabı baskılayarak düzenler (18,19). Bununla birlikte birkaç otoimmün hastalıkta inflamasyonun ilerlemesine neden olur (161). Th (helper - yardımcı) hücreler, sitokin patern ayrıntıları ve immün cevabın ortaya çıkışında ilgili işlevsel aktivitelere göre iki gruba ayrılabilir: Th1 ve Th2. Th1 hücreleri IL-2 ve Th2 hücreleri IL-10 salgılayarak tanımlanır. IL-10, Th1 hücreleri ve sitotoksik T-lenfositler (CTL) klonlarınca sitokin sentezini önler (162). Ayrıca IL-10, T hücrelerinde makrofaja bağılı sitokin üretimini de önlemektedir (163). IL-10, "patoloji" ve "korumak" arasında sağlanan dengedemerkezi rol almaktadır.

Gerçekte, IL-10^{-/-} fare fenotipinde yapılan araştırmalar, bu dengenin sağlanmasının IL-10 fonksiyonları arasında en önemlisi olduğunu önermektedir(20). IL-10'un hücresele hedefleri; T lenfositler, B lenfositler, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler ve epiteliyal hücrelerden oluşmaktadır. IL-10, otokrin, parakrin ve endokrin etki gösterebilir. IL-10'un birçok biyolojik etkisi, T lenfositler ve monositle başlar ve inflamatuvar yanıtın önlenmesine yol açar (164).(Tablo 2)

Tablo 2: IL-10'un Anti-inflamatuvar Etkileri (164)

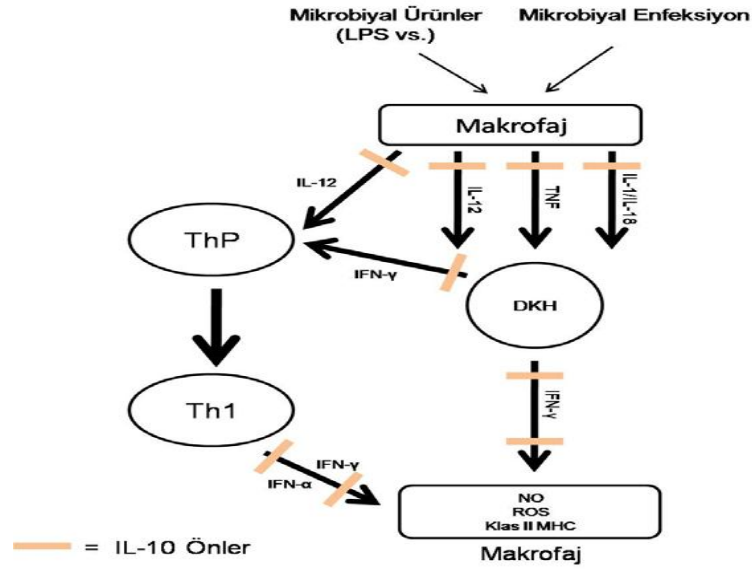
Hücre Tipi veya Hastalık Modeli	Etki
Monosit	IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , G-CSF ve GM-CSF üretiminin azalması
Monosit	HLA klas II'nin ifadenmesinde azalma Monosit Doku faktörü ifadenmesinde azalma
T Lenfosit	Proliferasyon azalması
T Lenfosit	IL-2 ve IL-5'in üretiminin azalması
Nötrofil	IL-8'in üretiminin azalması
Müközal immün sistem	Lamina propria hücrelerinde TNF- γ , IL-2 ve TNF- α üretimini azaltarak normal homeostazın korunması
T lenfosit transfer kolit	Rekombinant IL-10 ve IL-10 üreten Tr1 hücreleri önleyicidir
Kollajen-kaynaklı artrit	Pro-inflamatuvar sitokinlerin ifadenmesini önler, hastalığı iyileştirir
Deneysel alerjik ansefalit	IL-10 (genetik yatkınlığa bağlı olarak) ve IL-10 transgenik T lenfositlerin verilmesini yararlı etkisi vardır
Endotokseミア	Fare, köpek, maymunu ve insan gönüllülerinde proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını azaltır. Shwarzman reaksiyonunun şiddetini azaltır.
Deneysel pankreatit	IL-10 önleyicidir
Deneysel hepatit	IL-10 önleyicidir (galaktozamin veya ConA'ya bağlı)

Birçok patolojik durumda, IL-10'un başlıca aktivitesi, inflamasyonu bastırmaktır, ancak IL-10'un çeşitli potansiyel pro-inflamatuvar etkisi de olduğu unutulmamalıdır. IL-10, CD8+ lenfositlerin proliferasyonunu tetikler ve IL-2 ile

sinerjizm göstererek doğal öldürücü (NK) hücrelerin proliferasyonu ve sitokinlerin üretimine neden olur (165). IL-10, B lenfositlerin proliferasyonunu sağlayarak, (bu, Epstein-Barr virüsünden elde edilen vIL-10'un önemli etkilerinden biridir) bu hücrelerin immünoglobulin üretmesine neden olur (164). IL-10, sitokinlerin ifadenmesini ayarlar. IL-10; aktive edilmiş monosit/makrofajlarca IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, TNF, LIF ve PAF üretimini önler (9,20). IL-10, bu efektörlerin sadece üretimini önlemekle kalmayıp onların doğal antagonistlerini dearttırır.

IL-10, interlökin-1 reseptörü antagonisti (IL-1RA) ve çözünür p58 ve p57 TNFR üretimini arttırarak IL-1RI ve IL-1RII'nin monositlerce ekspresyonunu önler (9.20.166). Böylece; IL-10, monositlerin aktivasyonunu önler ve bunun yanı sıra anti-inflamatuvar moleküllerin üretimine de neden olur (167). IL-10'un sitokin ve kemokin üretimi üzerindeki önleyici etkilerine transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel mekanizmalar karışmaktadır (168-170). IL-10, monositlerde MHC klas II antijenleri, CD54 (ICAM-1), CD80 (B7) ve CD86 (B7.2) moleküllerinin ekspresyonunu posttranskripsiyonel bir mekanizma aracılığı ile önler (20.163.171).

Bu moleküllerin ifadenmesi azalınca monosit APC'lerin T hücre aktivasyonkapasitesi önemli derecede etkilenir (20, 162). Genel olarak IL-10; sitokin, kemokin ve PGE2 üretimini ve antijen prezantasyonunu önler (173,174). IL-10 makrofaj benzeri hücrelerin farklılanmasına neden olarak immün cevap ve inflamasyonun devam etmesini sınırlandırır ve fagositozu arttırarak enfeksiyonun temizlenmesine katkıda bulunur(20). (Şekil 8)



Şekil 5: Enfeksiyona Karşı İmmün Cevabın Düzenlenmesinde IL-10'un Rolü (20).

(DKH; Doğal Katil Hücre anlamında kullanılmıştır)

Organa Özel Otoimmüniteye Karşı Korunmada IL-10'un Rolü

IL-10, patojenlere karşı verilen immün cevabın sınırlandırılmasında önemli rol alır. Böylece, konakçı en az immün hasarla karşılaşarak patojen yok edilir. Aynı şekilde, IL-10'un periferik tolerans ve otoimmüniteye karşı korunmada da önemli rolü olduğu önerilmiştir. Deneysel otoimmün ensefalit (EAE), diyabet, insüline bağlı diyabetes mellitus (IDDM) ve romatoid artrit (RA) gibi birçok kronik otoimmün hastalıkta Th1 hücreleri; IFN γ , lenfotoksin ve TNF gibi sitokinler üretmektedir. Bu yüzden bu hücrelerin otoimmün hastalıklarda patojenik rolü olduğu önerilmiştir (20.175.176).

Buna karşılık, IL-4 ve IL-10 gibi sitokinleri ürettikleri için, Th2 hücrelerinin koruyucu bir rolü olduğuna inanılmaktadır. Ancak, ikinci görüş kesin değil çünkü IL-10 birçok diğer hücre türü tarafından da üretilir. IL-10 (IL-4 ve TGF β gibi) öz antijenler ve mukozal antijenlere karşı toleransta önemli rol alabilir(20)

IL-10 Geni

IL-10 geni 1. kromozomun uzun kolu üzerinde (1q31-32) haritalanmıştır 15,31. Bu gen, beş ekzondan oluşan 5,1 kb'lık bir DNA dizisini kapsamaktadır(42). IL-10 geninin -30'dan -24'e kadar olan bölgesinde tipik bir TATA kutusu (TATAAAA kutusu) vardır.

Bu, IL-10 ekspresyonunun (diğer birçok sitokin geni gibi) TATA tipi promotör aracılığı ile düzenlendiğini göstermektedir (42). IL-10 geninin ifadenmesi sonucu, ~2 kb'lık mRNA (hIL-10) ortaya çıkar(20,141).

IL-10 geninin bir dereceye kadar yapısal olarak transkripsiyona uğradığı ve daha sonra posttranskripsiyonel RNA degradasyon mekanizmalarının değişimi ile kontrole maruz kaldığı önerilmiştir. Yapısal ekspresyon ve postranskripsiyonel düzeyde ince kontrolün kombinasyonu, iltihaba karşı homeostatik cevabın hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına izin verir (20). IL-10 gen ekspresyonu SP1 ve SP2 transkripsiyon faktörleri aracılığı ile düzenlenir. Bu transkripsiyon faktörleri yapısal olarak ifade edilir ve G + C'ce zengin dizilere (GC kutusu) bağlanır. Ancak, bu faktörlerin, IL-10 promotörü üzerindeki bağlanma dizisi GC kutusu yerine çekirdek olarak CCTCCT dizisi içeren sis etkili bir elementtir (139,154).

2.4. IL-10 Geninde Bulunan Polimorfizmler

IL-10 geni polimorfiktir ve bu polimorfizm farklı bireylerde üretilen sitokin düzeylerinde nicel varyasyonlara neden olur (32). IL-10,hastalıklara genetik yatkınlık ile bağlantılıdır. IL-10 promotör polimorfizmi hastalıklara genetik yatkınlığın moleküler temelini oluşturabilir (33). İnsan IL-10 geninin 5' ucundaki dizilimde birkaç polimorfizm dikkate alınmıştır. Bu polimorfizmler,

– Transkripsiyon başlama noktasından ~1,2 kb ve ~4 kb 5' uca doğru (upstream) iki bölgede birçok (CA)_n tekrarından oluşan mikrosatelit polimorfizmler (IL-10.R ve IL-10.G)

– 1082 (A/G) (rs1800896A/G), – 819 (T/C) (rs1800871T/C) ve – 592 (A/C) (rs1800872A/C) pozisyonlarında bağlantılı (linked) üç SNP'den ibarettir (20,177).

IL-10 promotörünün tam olarak belirtilmemesine rağmen bu polimorfizmlerin promotör bölgesinde yer aldığı varsayılmaktadır (20). Ayrıca IL-10 distal promotör bölgesinde diğer SNP'lerin (– 2763, – 2849, – 3575 pozisyonlarında) de bulunduğu bilinmektedir (138). En çok araştırılan SNP'ler, transkripsiyon başlama noktasının 5' yönünde– 1082(A/G), – 819(T/C) ve

– 592(A/C) pozisyonlarında bulunan polimorfizmler olmuştur. Bu üç dimorfizm, özellikle – 819(T/C) ve – 592(A/C) polimorfizmleri, güçlü bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) gösterir (178).

Bu üç SNP'nin, IL-10 ekspresyon düzeyi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir ancak farklı sonuçlar elde edilmiştir (179).

– 1082A/G, ETS faktörü bağlanma yeri sanılan bir bölgede ve – 819 T/C, pozitif düzenleyici bölgede yerleşmiştir.

– 592 A/C ise, bir STAT3 bağlanma yeri ve negatif düzenleyici bölge olabilir (138,180).

IL-10 geninin – 1082 G aleli ve G içeren haplotipleri yüksek IL-10 ekspresyon düzeyi ile ilgili bulunmuştur (181). Başka bir çalışmada – 1082 A aleli düşük IL-10 üretimi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (136). Ancak diğer bir çalışmada, – 1082 polimorfizmi IL-10 düzeyini etkilememiş ve diğer taraftan periferik kan mononükleer hücrelerin (PBMC) Concanavalin (ConA) ile uyarılması sonrasında, promotör – 1082 GG genotipi ile düşük IL-10 üretimi arasında bağlantı bulunmuştur (135). Buna karşın, düşük IL-10 ekspresyonu, – 819 C ve – 592 C aleli ile bağlantılı bulunmuştur ve – 1082A/– 819C/– 592C haplotipini taşıyanlarda IL-10 üretiminin düşük olabileceği bildirilmiştir (182).

IL-10 distal promotör bölgesinde bulunan diğerSNP'lerin (– 2763, – 2849, – 3575) de IL-10 üretimini etkilediği öne sürülmüştür ancak proksimal promotör

pozisyonlar ile oluşan geniş haplotiplerin sitokin düzeyleri ile bağlantısı tam olarak açıklanmamıştır (138).

Birçok araştırmadan elde edilen sonuçlar, IL-10 promotör haplotipleri ile bazı hastalıklara yatkınlık veya hastalıkların şiddeti ile bağlantılı olduğunu göstermiştir. Belki de, en güçlü bağlantı Sistemik Lupus Eritematozis (SLE) hastalığında görülmüştür (20).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışma kapsamında aynı bölge de yaşayan rastgele seçilmiş sağlıklı kişilerden oluşan 124 bireylik kontrol grubu ile Koroner Arter hastalığı tanısı konulmuş 124 bireylik çalışma grubu karşılaştırıldı. Çalışma grubu, Kardiyoloji tarafından koroner anjiyografi çekilerek cerrahi müdahale kararı verilen hastalardan oluşturulmuştur. Kontrol grubu ise yine aynı merkez tarafından çekilen kontrol koroner anjiyografisinde ateroskleroz saptanmayan bireylerden teşkil edilmiştir. Çalışma grubuna ait kan örnekleri 2011 yılı içerisinde Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda ve bölgede bulunan diğer hastanelerin Kalp ve Damar Cerrahi servislerinde hastalığı tespit edilen bireylerden alınmıştır. Çalışma kapsamında kullanılacak çalışma ve kontrol grubuna ait kan örnekleri için Cumhuriyet Üniversitesi yerel etik kurulundan onay alınmıştır (Etik Kurul No: 2011-121).

3.2. DNA İzolasyonu

Bireylerden total genomik DNA izolasyonu, standart fenol-kloroform protokolünde bazı değişiklikler gerçekleştirilerek elde edildi (47). EDTA'lı tüplerde saklanan kan örneklerinden 400µl hacimde örnek 1.5ml'lik ependorf tüplere aktarıldı ve üzerlerine eklenen 400µl STE homojenizasyon tamponu (0,1 M NaCl, 0.01 M EDTA, 0.05 M Tris HCl (pH 8), 10% SDS) ile süspanse edildi. 50 µg/ml konsantrasyonuna sahip olacak şekilde proteinaz K eklendi ve 55°C'de belirli aralıklarla karıştırılarak 2-3 saat inkübasyona bırakıldı.

Ekstraksiyon sonrası ekstraktlara iki kez bir hacim fenol, bir hacim kloroform-izoamil alkol (25:24:1) ekstraksiyonu ve bir kez daha kloroform-izoamil alkol (24:1) ekstraksiyonu uygulandıktan sonra, alkol presipitasyonu yapılarak elde edilen genomikDNA 1xTE (10 mM Tris HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.0) tamponunda çözülerek -20°C'de saklandı.

3.3. Genomik DNA'nın Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi

Bireylerden izole edilen DNA örneklerinden 5µl alınarak, aşağıda açıklandığı gibi, %1'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak etidyum bromid ile boyandı. İzole edilen DNA numuneleri kalite açısından (izolasyon sırasında hasar görüp görmediği) incelendi. İzole edilen DNA'nın konsantrasyonu, spektrofotometre ile 260 nm'de absorbansları okunarak belirlendi. Stok DNA örneklerinden 20 µl alınarak 980 µl distile su ilave edilip 50 kat seyreltikten sonra kuvartz küvetlerde konup spektrofotometrede absorbansı ölçüldü. Ayrıca stok DNA'nın 280 nm'de absorbansı ölçülerek protein kontaminasyonu olup olmadığı test edildi. İzole edilen DNA'nın konsantrasyonunu belirlemek için aşağıdaki formülden yararlanıldı:

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki OD (absorbans)} \times \text{Sulandırma oranı} \times 50$$

3.4. Agaroz Jel Elektroforezi

Amplifikasyon ürününden yaklaşık 5µl alınarak, 1µl yükleme tamponu (6X) (%50 gliserol, 0.1 M EDTA , %0.1 bromfenol mavisi, Xylen siyanol) ile karıştırıldı. TBE tamponu içerisindeki (0,089 M Tris, 0,089 M Borik Asit ve 0,011 M EDTA, pH:8.3) %1,5'lük agaroz jelde ayrıştırıldı. Agaroz jelin hazırlanmasında, 10X TBE, distile su, 0,5µg/ml etidyum bromid ve agaroz (sigma) kullanıldı. Elektroforezden sonra, DNA Ultra Viyole ışığı altında görüntülendi ve PZR ürünleri kontrol edildi.

3.5. PZR Amplifikasyonu

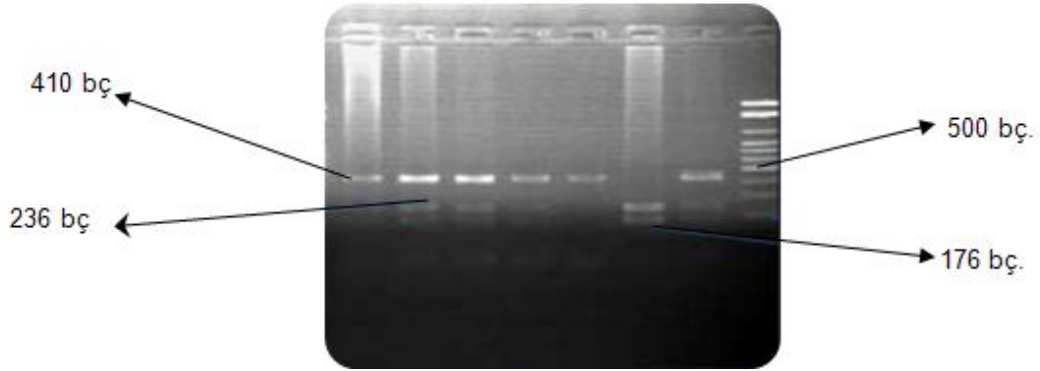
Polimorfizm bölgesini içine alan 480 bp'lik bölge, 5'CCTAGGTCACAGTGACGTAA3' ve

5'GGTGAGCACTACCTGACTAGC3' primerleri kullanılarak, daha önce tanımlandığı şekilde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile 2 35 oranında çoğaltıldı (48). PCR; 5 µl DNA şablonu, 10X tamponu içerisinde 1 U Taq

polimeraz (Fermentas, Lituanya), 200 μ mol dNTP, 1.5mM MgCl₂ ve her bir primerden 20 pmol içeren 50 μ l toplam hacim içerisinde gerçekleştirildi.

PCR şartları şu şekilde tanımlandı: 94 °C'de 5 dak ilk denatürasyonu takiben, denatürasyon 95 °C'de 30 sn, bağlanma 60 °C'de 1 dak ve uzama 72 °C'de 1 dak; son denatürasyon 95 °C'de 5 dk, toplam 25 siklus olacak şekilde.

Elde edilen İL-10 PCR ürünleri, %2'lik agaroz jel elektroforezine tabi tutulduktan sonra, ethidyum bromid ile boyanarak UV altında bantlar görüntülendi. -410 bç'deki A allelini belirlemek için, 5 μ l PCR ürünü, RsaI enzimi ile, uygun tampon (5mL Orange G) içerisinde 4 saat 37 °C'de inkübe edilerek kesildi. Elde edilen kesim ürünleri %3 agaroz jel elektroforezine tabi tutulduktan sonra ethidyum bromid ile boyanarak UV altında görüntülendi (172).



Resim 1: IL-10 Geninin Agaroz Jel Elektroforezinin Elektron Mikroskopisi Görüntüsü (172)

Bu işlem sonucunda, - 410 bç'de AAyabanıl homozigot alleli taşıyanlarda dizi üzerinde iki kesim noktası olduğundan 236 bç ve 176 bç bantlar gözlenirken, CChomozigot mutant allelini taşıyanlarda – 410 bç 'de bir kesim noktası olmadığından bantlar görülemedi. AC heterozigot aleli taşıyanlarda ise her üç bant (410,236 ve 176) görüldü.

3.6. RFLP Reaksiyonu

IL-6 da çalışılan polimorfizmde bireylerin genotipleri PZR'a dayalı RFLPyöntemiyle belirlendi. Polimorfizm için enzimin kullanıldığı Restriksiyon kesim şartları aşağıdaki gibidir.

3.6.1 Restriksiyon sindirim:

- Distile su	: 3,5 µl
- Enzim tamponu	: 1 µl
- Rest. Enzim	:0,5 µl
- PZR ürünü	:5 µl
Toplam hacim	:10

IL-10 lokusu ile Kodon -592 A>C polimorfizmini belirlemek üzere RsaI restriksiyon enzimi kullanıldı. Enzim tamponu (Tris-asetat pH: 7,9, 10mM magnezyum asetat, 66mM potasyum asetat, 0.1mg/ml BSA, Fermentas) 10 katı konsantrasyonunda kullanıldı.

(RsaI enziminin tanıma dizisi aşağıdaki gibidir: 5'... GT ^ A C. .. 3'---- 3'... CA ^ T G. .. 5')

4.İSTATİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analizler SPSS (13,0) programı kullanılarak yapıldı. IL-10 genotipinin çalışma ve kontroller arasındaki istatistiksel önemi ve risk katsayısı (OR) Pearson'un X^2 testi kullanılarak hesaplandı. Olasılık değeri (p) 0,05'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

5.BULGULAR

Çalışmamız tanısı kesinleşmiş 124 Koroner Arter hastalığı olan çalışma grubu ile 124 sağlıklı kontrol grubu arasında yapıldı.

Çalışma grubu 82 (%66.12) erkek ve 42(%33.87) kadın bireyden, kontrol grubu ise 54 (%43.54) erkek ve 70 (% 56.45)kadın bireyden oluşmaktaydı (Tablo-3). Çalışma ve kontrol grubu arasında cinsiyete bağlı dağılımda istatistiksel olarak farklılık tespit edildi ($p<0.005$).

Çalışma grubundaki bireylerin yaş ortalaması 63,79 +5,17, kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması ise 55,01+7,13' idi (Tablo-3) .Çalışma ve kontrol grubu arasında yaşa bağlı dağılımda istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığı belirlendi ($p<0.005$).

Çalışma grubu 76 (%61,29)bireyde yüksek kolesterol yoktu, 48 (%38,70)bireyde yüksek kolesterol tespit edildi. Kontrol grubu 94 (%75,80)bireyde yüksek kolesterol yoktu,30 (%24,19) bireyde yüksek kolesterol tespit edildi (Tablo-3). Çalışma ve kontrol grubu arasında yüksek kolesterole bağlı dağılımda istatistiksel olarak farklılık tespit edilemedi ($p<0.005$).

Çalışma grubu 58(%46,77)bireyde sigara içiciliği yok, 66 (%53,22)bireyde sigara içiciliği tespit edildi. Kontrol grubu71 (%57.25) bireyde sigara içiciliği yoktu, 53 (%42.74)bireyde sigara içiciliği tespit edildi (Tablo-3). Çalışma ve kontrol grubu arasında sigara içiciliğine bağlı dağılımda istatistiksel olarak farklılık tespit edilemedi ($p<0.005$).

Çalışma grubu 39 (%31,45)bireyde yüksek tansiyon yoktu, 85 (%68,54)bireyde yüksek tansiyon tespit edildi. Kontrol grubu 89 (%71,77)bireyde yüksek tansiyon yoktu, 35 (%28,22)bireyde yüksek tansiyon tespit edildi (Tablo-3). Çalışma ve kontrol grubu arasında yüksek tansiyona bağlı dağılımda istatistiksel olarak farklılık tespit edildi ($p<0.005$).

Çalışma grubu 78 (%62,90)bireyde diyabet yoktu, 46 (%37,09)bireyde diyabet tespit edildi. Kontrol grubu80 (%64,51) bireyde diyabet yoktu,44 (%35,48)bireyde diyabet tespit edildi (Tablo-3) .Çalışma ve kontrol grubu

arasında diyabete bağlı dağılımda istatistiksel olarak farklılık tespit edilemedi ($p<0.005$).

Çalışma ve kontrol grubuna ait demografik bilgiler Tablo-3 de sunulmuştur.

Tablo-3 Çalışma ve Kontrol Populasyonlarına Ait Demografik Bilgiler

		Hasta (%)	Kontrol (%)	P değeri	%95 OR
Toplam		124	124		
Cinsiyet	Erkek	82 (%66,12)	54 (%43,54)	0.000	0.37(0.22-0.63)
	Kadın	42 (%33,87)	70 (% 56,45)		
Yaş	Ortalama±SD	63,79 +5,17	55,01+7,13		
Sigara kullanımı	Yok	58(%46,77)	71 (%57,25)	0.098	1.52(0.82-2.51)
	Var	66 (%53,22)	53 (%42,74)		
Yüksek Kolesterol	Yok	76 (%61,29)	94 (%75,80)	0.014	1.97(1.14-3.42)
	Var	48 (%38,70)	30 (%24,19)		
Yüksek Tansiyon	Yok	39 (%31,45)	89 (%71,77)	0.000	5.54(3.21-9.55)
	Var	85 (%68,54)	35 (%28,22)		
Diyabet	Yok	78 (%62,90)	80 (%64,51)	0.792	1.072(0.63-1.80)
	Var	46 (%37,09)	44 (%35,48)		

Bu çalışmada IL-10 -592 A>C gen polimorfizmi agoroz jel üzerinde yürütülerek sonuçlar UV ışık altında okundu. Çalışma ve kontrol populasyonlarında IL-10 -592 A>C polimorfizminin allel frekans dağılımları Tablo 4'de sunuldu. IL-10 -592 A>C polimorfizmi için A allel frekansı kontrol grubunda %70,56 ve çalışma grubunda %65,72 dir. C allel frekansı dağılımı kontrol grubunda %29,43 ve çalışma grubunda ise %34,27 dir. Koroner Arter hastalarında IL-10 -592 A>C polimorfizminde allel C frekansı kontrol grubuna göre fazla olmasına karşın, istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.247$ OR=1,25; %95 CI=0,86-1.82).

Tablo-4 Çalışma ve kontrol popülasyonları arasında IL-10 -592 A>C polimorfizminin genotip frekansına bağlı hastalık için risk tahminleri

		Hasta(N/%)	Kontrol(N/%)	p değeri	OR %95 CI
Toplam Birey		124	124		
Allel Frekansı	A	163(%65,72)	175(70,56)		
	C	85(%34,27)	73(%29,43)	0.247	1.25(0.86-1.82)
Genotip Frekansı	AA	59(%47,58)	62(%50,00)		
	AC	45(%36,29)	51(%41,12)	0.782	0.92(0.54-1.58)
	CC	20(%16,12)	11(%8,87)	0.117	1.91(0.84-4.32)

Çalışma ve kontrol popülasyonları arasında IL-10 -592 A>C polimorfizminin genotip frekansına bağlı hastalık için risk tahminleri Tablo 4'te verilmiştir.

IL-10 -592 A>C polimorfizminde AA genotipinin AC genotipiyle karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı. Yine aynı şekilde AA genotipinin, CC genotipi ile karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç gözlenmedi.

Bu çalışma sonucu gösteriyor ki; AC genotipi taşıyan bireylerin AA genotipi taşıyan bireylere göre Koroner Arter hastalığına yakalanma riski değişiklik göstermemektedir. CC genotipi taşıyan bireylerin ise, AA genotipi taşıyan bireylere göre Aterosklerotik Koroner Arter hastalığına yakalanma riski 1.91 kat daha fazla olup istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir

6. TARTIŞMA

Ateroskleroz, vücutta orta ve büyük boy arterleri tutan endotel işlev bozukluğu ile giden kronik bir inflamatuvar süreçtir. Endoteldeki bu bozulma, ateroskleroza engel olabilen maddelerin yapımını azaltırken, ateroskleroza tetikleyen ve pıhtılaşmaya eğilimi artıran maddelerin üretimini artırır. Günümüzde artık aterosklerozis ve arteriyel trombozisteinflamasyon ve genetik 2 önemli mekanizma olarak kabul görmektedir. İnvitro çalışmalarve hayvan deneyleri klinik olarak kronik stabil angina, anstabil angina ve akut miyokardinfarktüsünde inflamatuvar belirteçlerin belirleyici değerlerde yükseldiğinindesteklemektedir. Yine çalışmalar inflamatuvar sistemdeki genetik varyasyonun koronerarter hastalığı riskini arttırdığını desteklemektedir. Genetik düzenlemedeki farklılıklarneden bazı insanlarda hastalık gelişmeyip bazılarında neden daha şiddetli inflamatuvarreaksiyon geliştiğini açıklayabilir. Yapılan bazıçalışmalar aterosklerozla bazıgenlerin ilişkisini ortaya koymayı başarmıştır.

Ateroskleroz; serebral, kardiyak, periferik etkileri ile multisistemik bulgularverebilmesine karşın, kardiyak etkileri nedeniyle sıkça ön plana çıkmış bir süreçtir. Bu süreç sonucunda bir dizi inflamatuvar olay tetiklenerek, ortamda diğer iltihap hücrelerinin ve sitokinlerin birikimine yol açar. Son çalışmalarda dolaşımda yer alan sitokinlerin inflamatuvar olaylarda önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Sitokinler inflamatuvar ve bağışıklık mekanizmalarının ayarlanmasında merkezi rol almaktadır. Interlökin-10, pleiotropik bir sitokin olarak; Th1 hücreleri, Tr1 hücreleri, B hücreleri, monositler, makrofajlar, keratinositler ve birçok tümör hücresince salgılanır (139)ve TNF- α , interlökin-1 α , interlökin-1 β , interlökin-6, interlökin-12 ve interferon- γ 'ningüçlü baskılayıcısıdır. IL-10, hücre aracılıklı ve sitotoksik immün cevabı baskılayarak düzenler (18,19). Böylece, "patoloji" ve "korumak" arasındasağlanan dengede, IL-10 merkezi rol almaktadır (20). Aynı şekilde, IL-10'unperiferik tolerans ve otoimmüniteye karşı korunmada da önemli rolüolduğu önerilmiştir (20).

İn vitro ve in vivo ortamlarda, IL-10 gen promotör bölgesipolimorfizminin, IL-10 protein üretimi ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (180). Dolayısı ile gen

polimorfizmine bağlı olarak değişken IL-10 üretiminin Aterosklerotik süreçte rol alabileceği sanılmaktadır. Daha önce yapılmışolan araştırmalar promotör bölgesinde pozitif ve negatif düzenleyicielemlerin bulunduğunu göstermiştir. Bu elementler interlökin-10 salgılanmasında görülen bireyler arasında farklılıklara katkıda bulunabilir (184).interlökin-10 üretiminde görülen varyasyonun % 75'inin genetik olarak belirlendiği sanılmaktadır (33).

Gazi Üniversitesinin 2007 yılında yapmış olduğu TİP 1 DİYABETTE İNTERLÖKİN-10 GEN PROMOTÖR BÖLGESİ POLİMORFİZMİNİN çalışma sonuçlarına göre; 117 hasta üzerinde yapılan çalışmada, IL-10 gen promotör bölgesinde tanımlanan – 1082, – 819 ve – 592 polimorfizmlerinin Türk toplumundaki alel ve haplotip sıklığı ve Tip 1 DM ile aralarındaki ilişki araştırılmış olup, bu üç SNP'nin Tip 1 DM'a yatkınlık ile bağlantılı olmadığını belirlenmiştir. Hasta grubu, klinik özelliklere göre alt gruplara ayrılarak, bu polimorfizmlerin hastalığın klinik heterojenitesi üzerindeki etkisi araştırılmış ve herhangi bir bağlantı gözlenmemiştir. Ayrıca, bu bölgedeki alellerin oluşturduğu üç yaygın haplotipin (GCC, ATA ve ACC) sıklıkları hasta ve kontrol grubunda anlamlı istatistiksel farklılık göstermemiştir. Dolayısıyla, bu üç haplotipin Tip 1 diayebet ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Diğer bir çalışmada, Tegoshi ve arkadaşları, IL-10 – 592 polimorfizmini araştırmış ve Japonlarda, tip 1 DM'a yatkınlık açısından bu polimorfizmin önemli bir etkisi olmadığını ancak hastalığın klinik heterojenitesi ile bağlantısı olabileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmada, 25 yaş üzerinde diyabete yakalanan hastalarda IL-10 – 592 C alellinin sıklığı daha yüksek olarak belirlenmiş ancak istatistik açıdan anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Araştırmacılar IL-10 – 592 polimorfizminin diyabet başlangıç yaşı ile bağlantılı olduğunu ancak bu gözlemlerin kanıtlanması için daha fazla araştırma gerektiğini vurgulamışlardır (186).

2004'de İspanyol araştırmacıların yaptığı bir çalışmada (187) ve Fransız araştırmacıların 2006'da yaptığı çalışmalarda da beyazlarda Tip 1 DM ile bu üç

SNP ve haplotipleri arasında herhangi bir bağlantının bulunmadığını göstermiştir (188).

2001'de Alman araştırmacılarca yapılan çalışmada (189), anlamlı koroner darlığı olan fakat semptomları olmayan ya da akut MI bulguları olmayan Koroner Arter Hastaları ile (n = 998), anjiyografik olarak incelenen eski miyokard infarktüsü geçiren hastalar (n = 793) ,anjiyografik olarak ve klinik olarak şikayeti olmayan sağlıklı, 340 kontrol grubu birey ile karşılaştırılmış ve Allel frekansları, genotip dağılımları ve üç IL-10 promoter polimorfizmi,-1082G / A,-819C / T ve-592C / A, koroner arter hastalarında, MI hasta ve eşleştirilmiş kontrol grubu ile benzer bulunmuştur.Ancak dūřuk IL-10 ve yūksek TNF-α üretimini, sırasıyla, ve KAH ve MI hasta gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Meksika'da yapılan bir çalışmada İL-10 'nun Akut Koroner Sendromlu hastalarda bir belirteç rolū oynayıp oynamadığı araştırılmış ve çalışmaya 389 AKS hasta ve 302 sağlıklı kontrol grubu birey alınmış. AKS hastalarda IL-10-592 C alleli ve CC genotipi frekansları sağlıklı kontrol grubuna gōre artış gōstermiř (pC = 0.0006, OR = 1.48 ve pC = 0.022, sırasıyla OR = 1.56), A alleli ve AA genotipi frekansları ise AKS'li grupta azalmış (pC sırasıyla = 0.0006,O =0.68 ve pC = 0.006,OR=0.57) . Cinsiyete gōre çoklu lojistik analizlere gōre IL-10 -592 CC erkek bireylerin, AC genotipleri ile AA genotipine (p <0.001) sahip bireylere gōre AKS gelişme riskinin 3.54 kat artmış olduğunu gōstermiřtir (190).

Smith ve arkadaşlarının anjiyografik olarak tanı konulmuř 50 kronik stabil anjinalı ve 46 anstabil anjinalı olguda yaptıkları çalıřmada, anstabil anjinalı grupta,serum İL-10 düzeyinin anlamlı olarak dūřuk bulunduęu tespit edilmiřtir.Sonuçların aterosklerozda İL-10'un koruyucu rolūnū destekledięi bildirilmiřtir.

Heeschen ve arkadaşlarının çalışmasında Akut Koroner Sendromlu hastalarda CAPTURE çalışmasının verileri kullanılarak serum İL-10 seviyesinin prognostik bilgi sağlayıp sağlayamadığı araştırılmıştır.Anjiyografi ile kesin tanı almış 1265 KAH olgu grubu ile 547 olgudan oluşan kontrol grubunda İL-10,CRP

ve Troponin T düzeylerine bakılmıştır. Yüksek İL-10 seviyesine (5.1 pg/ml. ve üzeri))sahip olguların Koroner Arter Hastalığı açısından daha düşük riskli olduğu saptanmıştır.

Ege Üniversitesinde 2007'de yapılan KAH hastalarında İL-10 gen polimorfizminin araştırılması adlı bir TEZ çalışmasında; 86 KAH hastası ve 88 kontrol grubu incelenmiş ve İL-10 -1082 G/A ve İL-10 -592 C/A polimorfizmlerinin genel olarak popülasyonumuzda KAH açısından anlamlı bir risk oluşturmadığı, cinsiyet ve yaş olarak gruplandırmalar yapıldığında 45 yaş altı erkeklerde İL-10 -592 C/A polimorfizminin KAH açısından anlamlı risk oluşturduğu görülmüştür. Ayrıca İL-10 -592 C/A polimorfizmi için hastalarda tutulan damar sayısı arttıkça risk alleli sıklığının anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir.

Mallat ve arkadaşlarının aterosklerotik sürecin modülasyonu anti-inflamatuar sitokinlerin potansiyel rolünü anlamak için yaptıkları fare deneylerinde; IL-10-eksik C57BL/6J farelerde aterojenik diyet ve spesifik patojen içermeyen koşullar altında ortaya vahşi tip fareleri ile karşılaştırıldığında lipid birikiminin önemli bir artış sergilediği, görülmektedir. Farelerde alışılmış koşullar altında muhafaza edildiğinde IL-10-eksikliği olan farelerin İlginç bir şekilde, ateroskleroza, yatkınlığının (30 kat artış) yüksek derecede olduğu görülmüştür. IL-10-eksik farelerde aterosklerotik lezyonda artmış T hücre infiltrasyonu, artmış interferon- γ düzeyleri ve azalmış kollajen içeriği bulunmuştur. Sonuçta, IL-10'nun ateroskleroz üzerinde çevresel patojenlerin etkilerine karşı koruyucu bir faktör olarak önemi saptanmıştır.

Caligiuri ve arkadaşlarının 2003'te yaptığı bir çalışmada Apolipoprotein-E eksikliği olan Farelerde İL-10 eksikliğinin Ateroskleroz oluşumuna etkisi araştırılmıştır ve sonuçta aterosklerozun erken evrelerinde prokoagülan ve proteolitik aktivitenin Apo-E eksik farelerde İL-10 düzeylerindeki azalmaya ters olarak arttığı ve aterosklerotik sürecin hızlandığı görülmüştür.

Bizim yaptığımız bu çalışmada ise, IL-10 gen promotör bölgesinde tanımlanan -592 polimorfizminin, kontrol ve hastagrubundaki genotip ve alellerinin sıklığı karşılaştırılmış ve bu SNP'nin Kardiyak Ateroskleroza yatkınlık ile bir bağlantısı olup olmadığı araştırılmıştır.

Hasta grubu, klinik özelliklere göre alt gruplara (Diyabet, sigara kullanımı, hiperkolesterolemi, yaş, cinsiyet) ayrılarak, bu polimorfizmin hastalığın klinik heterojenitesi üzerindeki etkisi araştırılmış ve herhangi bir bağlantı gözlenmemiştir.

Ayrıca, bu bölgedeki alellerin oluşturduğu üç yaygın haplotipin (AA, AC ve CC) sıklıkları hasta ve kontrol grubunda anlamlı istatistiksel farklılık göstermemiştir. Dolayısıyla, bu üç haplotipin Kardiyak Ateroskleroz ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak, verilerimiz CC haplotipini taşıyanların, AA haplotipini taşıyanlara göre daha fazla hastalığa yakalanma riski taşıdığını göstermektedir.

Bu haplotiptoplumda nadir görülse de Koroner Ateroskleroz'a yakalanma açısından risk faktörü olarak görülebilir. Ancak bu haplotipin sıklığı göz önüne alınarak kesin bir sonuca varmak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Bizim çalışmamızda; -592 A/C polimorfizmi için A allel frekansı kontrol grubunda %70,56 ve hasta grubunda %68,72 dir. C allel frekansı dağılımı kontrol grubunda %29,43 ve hasta grubunda ise %34,27 dir. Aterosklerotik Koroner Arter hastalarında -592 A/C Polimorfizminde allel C frekansı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksek olmadığı belirlendi. (p=0.247)

-592 A/C polimorfizminde AA genotipinin AC genotipiyle karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmiştir (p=0,782, OR= 0,92)

-592 A/C polimorfizminde AA genotipinin CC genotipiyle karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (p= 0,117, OR=1.91) Ancak bu çalışma sonucu gösteriyor ki; CC genotipi taşıyan

bireylerin AA genotipi taşıyan bireylere göre Aterosklerotik Koroner Arter hastalığına yakalanma riski 1.91 kat daha fazladır.

Her bir faktörün olası Koroner Arter Hastalığı etkisini değerlendirmek için yapılan lojistik regresyon analizine göre; yaş, hiperlipidemi ve diyabetin, Koroner Arter hastalığı üzerine bir etkisi olmadığı görülürken; cinsiyet ve hipertansiyonun hastalık üzerine etkisi olduğu bulunmuştur. Buna göre; hasta grubundaki tansiyonu olan bireylerin hastalığa yakalanma riski kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat daha fazladır.

7.SONUÇLAR

Koroner Arter hastalığı olduğu bilinen erkek, bayan toplam 124 hasta ve Koroner Arter hastalığı olmayan, sağlıklı 54 erkek, 70 bayan toplam 124 kontrol grubu;

- Yaş
- Cinsiyet
- Sigara içiciliği,
- Hipertansiyon,
- Hiperkolesterolemi,
- Tip 2 Diyabetes Mellitus açısından araştırıldı.

Araştırmamız sonucunda;

- Koroner Arter hastalığı olanların yaş ortalamasıyla, Koroner Arter hastalığı olmayan kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.
- Koroner Arter hastalığı olanlarla, Koroner Arter hastalığı olmayan kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Erkek cinsiyette daha fazla)
- Koroner Arter hastalığı olanlarla, Koroner Arter hastalığı olmayan kontrol grubu arasında sigara içiciliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
- Koroner Arter hastalığı olanlarla, Koroner Arter hastalığı olmayan kontrol grubu arasında yüksek tansiyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.
- Koroner Arter hastalığı olanlarla, Koroner Arter hastalığı olmayan kontrol grubu arasında hiperkolesterolemi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

- Koroner Arter hastalığı olanlarla, Koroner Arter hastalığı olmayan kontrol grubu arasında tip 2 Diyabetes Mellitus açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

8. KAYNAKLAR

1. Robert E, Rozensweig G, Rozensweig A. Coronary Atherosclerosis. In: Jameson JL. Eds Principles of Molecular Medicine, New Jersey: Humana Press Tawata, 1998:133-140.
2. Fuster V. Lewis A. Conner Memorial Lecture: Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation*, 1995;91:256-264.
3. Onat A, Dursunoğlu D, Bulur S, Küçükdurmaz Z, Kaya Z. TEKHARF çalışması 2007 taraması: Mortalite ve koroner mortalitede azalma eğilimi sürüyor. *Türk Kardiyol Dern Arş*,2008;36:77-81
4. Türk halkında kalp kökenli ölümler. *Türk Kalp Raporu*, Yenilik basımevi, 11-15: 2000
5. Ford ES. Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate and diabetes incidence in a national sample of U.S. adults. *Am J Epidemiol*, 2002; 155,57-64.
6. Crook MA, Tutt P, Pickup JC. Elevated serum sialic acid concentration in NIDDM and its relationship to blood pressure and retinopathy. *Diabetes Care*, 1993; 16:57-60.
7. Jessup W, Kritharides L, Stocker R. Lipid oxidation in atherogenesis: An overview. *Biochemical Society Transactions*, 2004; 32:134-138.
8. Binder CJ, Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine*, 2002;8(11):1218-1226.
9. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes:an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*1991; 174: 1209-20.
10. Chen M, Masaki T, Sawamura T. LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther*, 2002;95:89-100.

11. Mehta JL, Li D. Identification, regulation and function of a novel lectin-like oxidized lowdensity lipoprotein receptor. *J Am Coll Cardiol*, 2002;39:142-35.
12. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its patobiological significance. *J Biol Chem* 1997;272:20963-6
13. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem*, 1983;52:223-61 *Science*, 1986; 223: 34-47.
14. Geng YJ, Hansson GK. Interferon-g inhibits scavenger receptor expression and foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. *J Clin Invest* 1992;28:1322-30
15. Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JGA, Thomazy VA, Evans RM. PPAR γ promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 1998;93:241-52
16. Le T, Leung L, Carroll WL, Schibler KR. Regulation of interleukin-10 gene expression: possible mechanisms accounting for its upregulation and for maturational differences in its expression by blood mononuclear cells. *Blood* 1997; 89: 4112-9.
17. D'Andrea A, Aste-Amezaga M, Valiante NM, Ma X, Kubin M, Trinchieri G. Interleukin 10 (IL-10) inhibits human lymphocyte interferon gamma production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/IL-12 synthesis in accessory cells. *J Exp Med* 1993; 178: 1041-8.
18. Wogensen L, Lee MS, Sarvetnick N. Production of interleukin 10 by islet cells accelerates immune-mediated destruction of beta cells in nonobese diabetic mice. *J Exp Med* 1994; 179: 1379-84.
19. Lee MS, Mueller R, Wicker LS, Peterson LB, Sarvetnick N. IL-10 is necessary and sufficient for autoimmune diabetes in conjunction with NOD MHC homozygosity. *J Exp Med* 1996; 183: 2663-8.
20. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:683-765.

21. Smith DA, Irving SD, Sheldon J, Cole D, Kaski JC. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. *Circulation*;2001;104:746-9
22. Anguera I, Miranda-Guardiola F, Bosch X, Fiella X, Sitges M, Marin JL, Betriu A, Sanz G. Elevation of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 and decreased risk of coronary events in patients with unstable angina. *Am Heart J*;2002;144:811-7
23. Caliguri G, Rudling M, Ollivier V, Jacop MP, Michel JB, Hanson GK, Nicoletti A. Interleukin-10 deficiency increases atherosclerosis, thrombosis, and low-density lipoproteins in apolipoprotein E knockout mice. *Mol Med*; 2003; 9:10-7
24. Waehre T, Halvorsen B, Damas JK, Yndestad A, Brosstad F, Gullestad L, Kjekshus J, Froland SS, Aukrust P. Inflammatory imbalance between IL-10 and TNF α in unstable angina: potential plaque stabilizing effects of IL-10. *Eur J Clin Invest*; 2002;32:803-10
25. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Boeresma E, Simoons ML, Zeiher AM. Serum level of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*;2003;107:2109-14
26. Bhatt DL, Mills R. The ying and yang of arterial inflammation. *J Am Coll Cardiol*;2004;44:50-2
27. Pinderski LJ, Fischbein MP, Subbanagounder G, Fischbein MC, Kubo N, Cheroutre H, Curtiss LK, Berliner JA, Boisvert WA. Overexpression of interleukin-10 by activated T lymphocytes inhibits atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice by altering lymphocyte and macrophage phenotypes. *Circ Res*;2002;90:1064-71
28. Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, Peetz D, Cambien F, Meyer J, Rupprecht HJ. Interleukin 18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation*;2002;106:24-30.
29. Blankenberg S, Luc G, Ducimetiere P, Arveiler D, Ferrieres J, Amouyel P, Evans A, Cambien F, Tiret L. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in

- European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation*;2003;108:2453-9
30. Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Masuda T, Machida Y, Kitano Y, Kurosawa T, Izumi T. C-reactive protein-induced production of interleukin-18 in human endothelial cells: a mechanism of orchestrating cytokine cascade in acute coronary syndrome. *Heart Vessels*;2003;18:183-7
 31. Rapoport MJ, Jaramillo A, Zipris D, Lazarus AH, Serreze DV, Leiter EH, et al. Interleukin 4 reverses T cell proliferative unresponsiveness and prevents the onset of diabetes in nonobese diabetic mice. *J Exp Med* 1993; 178: 87-99
 32. Kalish RB, Vardhana S, Gupta M, Perni SC, Witkin SS. Interleukin-4 and -10 gene polymorphisms and spontaneous preterm birth in multifetal gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 702-6.
 33. Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW, Elouali AH, Verweij CL, Boomsma DI, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet* 1997; 349: 170-3. Erratum in: *Lancet* 1997; 349: 656.
 34. American Heart Association. Heart diseases and stroke statistics-2004 update. Dallas, American Heart association, 2004.
 35. Özcan N Pay S, Çalıġkaner Z. Koroner Kalp Hastalıklarında Risk Faktörleri, Korunma ve Tedavi. In: Özcan N Eds. Koroner Kalp Hastalıkları, Ankara, 1997,31-58.
 36. McEwan SR, Davies HT, Allan E, Maclean D, Forbes CD. Measurement and management of cardiovascular risk factors-is screening worthwhile? *Scott Med J*, 1993;38(6):173-7.
 37. Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study, *Lancet*. 1997;349:1436-1442.
 38. Gaw A. Hyperlipidemia as a risk factor for vascular disease. In: Gaw A, Packard CJ, Shepherd J. Eds *Statins: The HMG CoA Reductase Inhibitors in Perspective*, 2nd Ed. London: Martin Dunitz, 2000; 7-8.
 39. Virchow R. *Cellular Pathology as Based Upon Physiological and Pathological Histology*. London: John Churchill, 1860:325.

40. Rokitansky K. *The Organs of Circulation: A Manuel of Pathological Anatomy, Vol IV*. Philadelphia: Blanchard & Lea, 1855.
41. Osler W. *The Principles and Practice of Medicine*. Baltimore: Appleton, 1892.
42. Anitschkow N, Chaladow S. On experimental cholesterol steatosis and its significance in the origin of some pathological processes. *Zentrbl Allg Pathol Pathol Anat*, 1913;24,1-9.
43. Hameed A, Elkayam U. Peripartum cardiomyopathy. In: Crawford M, DiMarco J. Eds. *Cardiology*, 1st Ed. London: Mosby, 2001:513
44. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999; 340:115-126.
45. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990s. *Nature*, 1993; 362:801-9.
46. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*, 1986; 223: 34-47.
47. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. In: Braunwald E. Eds. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 5th Ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997;1105-1125.
48. Binder CJ, Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine*, 2002; 8 (11):1218-1226.
49. Vallance P. Vascular endothelium, its physiology and pathophysiology. In: Wetherall DJ, Ledingham JGG, Warrell DA. Eds. *Oxford Textbook of Medicine*. Oxford: Oxford University Press, 1995;2295-2300.
50. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis-an update. *N Engl J Med*, 1986;314(8):488-500.
51. Osiecki H. The role of chronic inflammation in cardiovascular disease and its regulation by nutrients. *Alternative Medicine Review*, 2004; 9 (1):32-53.
52. Worthley SG, Osende JJ, Helft, Badimon JJ, Fuster V. Coronary Artery Disease: Pathogenesis and Acute Coronary Syndromes. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 2001;68.167-181.

53. Schwenke DC, Carew TE. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits. I. Focal increases in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions. *Arteriosclerosis*, 1989;9(6):895-907.
54. Öngen Z. Aterosklerotik Kalp Hastalıkları. In: Erol Ç. Eds. *Klinik Kardiyoloji*, 1nd Ed. Ankara; Nobel 2004;1-15.
55. Tsao PS, Wang B, Buitrago R, Shyy JY, Cooke JP. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation*, 1997;96(3):934-40.
56. Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, Cooke JP. Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness. Nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM-1. *Circulation*, 1996;94(7):1682-9.
57. De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr, Shin WS, Liao JK. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*, 1995;96(1):60-8.
58. Li H, Förstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol*, 2000; 190(3):244-54.
59. Gimbrone MA Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Am J Pathol*, 1999;155(1):1-5.
60. Libby P, Warner SJ, Saloman RN, Brinyi LK. Production of platelet-derived growth factor like mitogen by smooth muscle cells from human atheroma. *NEJM*, 1988;18: 333-338.
61. Shanahan CM, Weissberg PL. Smooth muscle cell heterogeneity: patterns of gene expression in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998;18(3):333-8.
62. Stary HC. *Atlas of atherosclerosis progression and regression*, 2nd Ed. New York: Parthenon Publishing, 2003;13-15.
63. Zaman AG, Helft G, Worthley SG, Badimon JJ. The role of plaque rupture and thrombosis in coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 2000;149(2):251-66.

64. Larsson PT, Wallen NH, Hjerdahl P. Norepinephrine-induced human platelet activation in vivo is only partly counteracted by aspirin. *Circulation*, 1994;89(5):1951-7.
65. Grignani G, Soffiantino F, Zucchella M, Pacchiarini L, Tacconi F, Bonomi E, Pastoris A, Scaffi A, Fratino P, Tavazzi L. Platelet activation by emotional stress in patients with coronaryartery disease. *Circulation*, 1991;83:128-36.
66. Fuster V, Chesebro JH, Frye RL, Elveback LR. Platelet survival and the development of coronary artery disease in the young adult: effects of cigarette smoking, strong family historyand medical therapy. *Circulation*, 1981;63(3):546-51.
67. Celi A, Pellegrini G, Lorenzet R, De Blasi A, Ready N, Furie BC, Furie B. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994;91(19):8767-71.
68. Furman MI, Benoit SE, Barnard MR, Valeri CR, Borbone ML, Becker RC, HechtmanHB, Michelson AD. Increased platelet reactivity and circulating monocyte-platelet aggregates inpatients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 1998;31(2):352-8.
69. Henn V, Slupsky JR, Grafe M, Anagnostopoulos I, Förster R, Müller-Berghaus G, Kroczeck RA. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature*, 1998;391(6667):591-4.
70. Salonen JT, Ylä-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, Nyssönen K, Palinski W, Witztum JL. Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet*, 1992;339(8798):883-7.
71. Frostegard J, Ulfgren AK, Nyberg P. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: Dominance of proinflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis*, 1999;145:33-43.
72. Naruko T, Ueda M, Haze K. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation*, 2002;106: 2894-99.
73. Libby P. Atheroma: more than mush. *Lancet*. 1996;348 (1):4-7.
74. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J AmColl Cardiol*,1997;30(2):325-33.

75. Braun M, Pietsch P, Schrör K, Baumann G, Felix SB. Cellular adhesion molecules on vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res*, 1999;41(2):395-401.
76. Hillis GS, Flapan AD. Cell adhesion molecules in cardiovascular disease: a clinical perspective. *Heart*, 1998;79(5):429-31.
77. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion
78. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules-Part II: Blood vessels and blood cells. *N Engl J Med*, 1996;335(1):43-5.
79. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest*, 1991;88(4):1121-7.
80. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 1995;91(11):2844-50.
81. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*, 1995;92(3):657-71.
82. Mulvihill NT, Foley JB. Inflammation in acute coronary syndromes. *Heart*, 2002;87(3):201-4.
83. Robbins M, Topol EJ. Inflammation in acute coronary syndromes. In: Topol EJ, Eds. *Acute Coronary Syndromes*. 2nd Ed. New York: Marcel Dekker, 2001;1-31.
84. Libby P. The vascular Biology of Atherosclerosis. In: Braunwald E, Bonow RO, Libby P, Zipes DP. Eds. *Braunwald's Heart Disease*. 7th Ed. Philadelphia: Sanders, 2005;921-939.
85. Davies MJ. *Atlas of Coronary Artery Disease, atherosclerosis*, Lippincott Raven Publishers 1998.
86. Clarkson P, Celermajer DS, Powe AJ, Donald AE, Henry RM, Deanfield JE. Endotheliumdependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease. *Circulation*, 1997;96(10):3378-83.
87. Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree

- relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation*, 2000;101(15):1780-1784.
88. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*, 2000;101(9):948-954.
 89. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*, 1993;88,2149-55.
 90. Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, Brownlee M, Bones C, Newcombe RG, Lewis MJ. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation*, 1998;98(18):1848-52.
 91. Vink H, Constantinescu AA, Spaan JA. Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer: implications for platelet-endothelial cell adhesion. *Circulation*, 2000;101(13):1500-2.
 92. Kuhn FE, Mohler ER, Satler LF, Reagan K, Lu DY, Rackley CE. Effects of high-density lipoprotein on acetylcholine-induced coronary vasoreactivity. *Am J Cardiol*, 1991;68(15):1425-30.
 93. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*, 1997;95(8):2068-74.
 94. Wenzel RR, Duthiers N, Noll G, Bucher J, Kaufmann U, Lüscher TF. Endothelin and calcium antagonists in the skin microcirculation of patients with coronary artery disease. *Circulation*, 1996;94(3):316-22.
 95. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*, 1998;98 (18):1842-7.

96. Vergnani L, Hatrik S, Ricci F, Passaro A, Manzoli N, Zuliani G, Brovkovych V, Fellin R, Malinski T. Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production: key role of L-arginine availability. *Circulation*, 2000;101(11):1261-6.
97. <http://www.evgn.org/endothelial-dysfunction-for-general-public> (Erişim tarihi: 17.11.2011)
98. Steinberg D, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*, 1997; 95(4), 1062-71.
99. Parthasarathy S. Low density lipoproteins and atherogenesis. In: Wilson PWF. *Atlas of atherosclerosis*. 2nd. Ed. Philadelphia: Current Medicine, 2000; 91-109.
100. Takahashi M, Kitagawa S, Masuyama JI, Ikeda U, Kasahara T, Takahashi YI, Furukawa Y, Kano S, Shimada K. Human monocyte-endothelial cell interaction induces synthesis of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Circulation*, 1996;93(6):1185-93.
101. Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, 1994; 344 (8925):793-5.
102. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest*, 1999;88(6):1785-92.
103. Annex BH, Denning SM, Channon KM, Sketch MH Jr, Stack RS, Morrissey JH, Peters KG. Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. *Circulation*, 1995;91(3):619-22.
104. Ball RY, Stowers EC, Burton JH, Cary NR, Skepper JN, Mitchinson MJ. Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. *Atherosclerosis*, 1995;114(1):45-54.
105. Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring-the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J*, 1985;53(4):363-73.

106. Mann JM, Davies MJ. Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation*, 1996;94(5):928-31.
107. O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, Allen M, Alpers C. Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation*, 1996;93:672-82.
108. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA. Atherothrombosis and high risk plaque: Part I: Evolving concepts. *J Am Coll Cardiol*, 2005;46:937-54.
109. Fuster V, Fayad ZA, Badimon JJ. Acute coronary syndromes: biology. *Lancet*, 1999;353 (12) :5-9.
110. Weissberg P. Mechanisms modifying atherosclerotic disease-from lipids to vascular biology. *Atherosclerosis*, 1999;147 (1):S3-10.
111. Shah PK. New insights into the pathogenesis and prevention of acute coronary syndromes. *Am J Cardiol*, 1997;79(12B):17-23.
112. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995; 15(9):1512-31.
113. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02- 5215. 2002
114. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995;15:551-61.
115. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med* 1988;318(12):727-32

116. Goldstein JL, Brown MS.. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem*, 1983;52:223-261.
117. Abujua PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, Lipid peroxidation and oxidatin resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, 2001; 306:1-17.
118. Esterbauer H, Wag G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull*, 1993;49(3):566-576.
119. Uysal M. Serbest radikaller, lipidperoksitleri ve organizmada pro oksidanantioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*, 1998;11:336-341.
120. Dormandy TL. An approach to free radicals. *The Lancet*, 1983;29,1010-1013.
121. Chen YT, Zheng RL, Jia ZJ, Ju Y. Flavonoids as superoxide scavengers anad antioxidants. *Free Radic Biol Med*, 1990; 9(1): 19-21.
122. Tsujimoto Y, Hashizume H, Yamazaki M. Superoxide radical scavenging activity of phenolic compounds. *Int J Biochem*, 1993; 25(4): 491-494.
123. Del Maestro R. Free radicals as mediators of tissue injury. In: Dreosti IE. Eds. Trace elements, micronutrients and free radicals. Clifton: Humano Press Inc, 1991; 25-51.
124. Rosengreen A, Wilhelmsen L, Eriksson E. Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-controlled study in a general population sample of middle aged men. *Br Med J*,1990;301:1248.
125. Heinecke JW, Rosen H, Chait A. Iron and copper promote modification of lowv density lipoprotein by human arterial smooth muscle cells in culture. *J. Clin. Invest*, 1984; 74: 1890- 1894.
126. Akkuş Ğ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
127. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen derived free radicals. *Arch Surg*,1991; 126: 104-106.

128. Cooke JP, Tsao PS. Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler. Thromb*, 1994; 14: 653-655.
129. Chang GJ, Woo P, Honda HH, Ignarro LJ, Berliner JA, Demer LL. Oxidation of LDL to a biologically active form by nitric oxide and nitrite and in the absence of superoxide-dependence on pH and oxygen. *Arterioscler. Thromb*, 1994; 1808-1804.
130. Sakurai T, Kimura S, Nakano M, Kimura H. Oxidative modification of glycated low density lipoprotein in the presence of iron. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 1991;177: 433-439.
131. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure activity relationship. *Free Radic Biol Med*, 1997; 22(5): 749-760.
132. Keen LJ. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transpl Immunol* 2002; 10: 143-6.
133. Zdnaov A. Structural features of the interleukin-10 family of cytokines. *Current Pharmaceutical Design* 2004, 10, 3873-3884
134. Reuss E, Fimmers R, Kruger A, Becker C, Rittner C, Hohler T. Differential regulation of interleukin-10 production by genetic and environmental factors-a twin study. *Genes Immunity* 2002; 3: 407-13.
135. Warle MC, Farhan A, Metselaar HJ, Hop WC, Perrey C, Zondervan PE, et al. Are cytokine gene polymorphisms related to in vitro cytokine production profiles. *Liver Transpl* 2003;9:170-81.
136. Yilmaz V, Yentur SP, Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production. *Cytokine* 2005; 30: 188-94.
137. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun*. 1999; 1: 3-19.
138. Gibson AW, Edberg JC, Wu J, Westendorp RG, Huizinga TW, Kimberly RP. Novel single nucleotide polymorphisms in the distal IL-10 promoter

- affect IL-10 production and enhance the risk of systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2001; 166: 3915-22.
139. Tone M, Powell MJ, Tone Y, Thompson SA, Waldmann H. IL-10 Gene Expression Is Controlled by the Transcription Factors Sp1 and Sp3. *The Journal of Immunology* 2000; 165: 286-291
 140. Tan JC, Indelicato SR, Narula SK, Zavodny PJ, Chou C-C. Characterization of interleukin-10 receptors on human and Mouse cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 21053-9.
 141. Vieira P, Malefyt RW, Dang M-N, Johnson KE, Kastelein R, Fiorentino DF, et al. Isolation and expression of human cytokine synthesis inhibitory factor cDNA clones: Homology to Epstein-Barr virus open reading frame BCRF1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 1172-6.
 142. Zdanov A, Schalk-Hihi C, Wlodawer A. Crystal structure of human interleukin-10 at 1,6 Å resolution and a model of a complex with its soluble receptor. *Protein Sci* 1996; 5: 1955-62.
 143. Huang YC, Tsukamoto K, Sharma V. Interleukin-10 promoter gene polymorphisms have no clear influence on interleukin-10 protein secretion in AIDS-associated B-cell lines. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2005, 335: 529-535.
 144. Bazan JF. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 6934-8.
 145. Ho AS, Liu Y, Khan TA, Hsu DH, Bazan JF, Moore KW. A receptor for interleukin 10 is related to interferon receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 11267-71.
 146. Spencer SD, Di Marco F, Hooley J, Pitts-Meek S, Bauer M, Ryan AM, et al. The orphan receptor CRF2-4 is an essential subunit of the interleukin 10 receptor. *J Exp Med* 1998; 187: 571-8.
 147. Kotenko SV, Krause CD, Izotova LS, Pollack BP, Wu W, Pestka S. Identification and functional characterization of a second chain of the interleukin-10 receptor complex. *EMBO J* 1997; 16 (19): 5894-903.

148. Ho AS, Wei SH, Mui AL, Miyajima A, Moore KW. Functional regions of the mouse interleukin-10 receptor cytoplasmic domain. *Mol Cell Biol.* 1995; 15: 5043-53.
149. Lai CF, Ripperger J, Morella KK, Jurlander J, Hawley TS, Carson WE, et al. Receptors for interleukin (IL)-10 and IL-6-type cytokines use similar signaling mechanisms for inducing transcription through IL-6 response elements. *J Biol Chem* 1996; 271: 13968-75.
150. Wehinger J, Gouilleux F, Groner B, Finke J, Mertelsmann R, Weber-Nordt RM. IL-10 induces DNA binding activity of three STAT proteins (Stat1, Stat3, and Stat5) and their distinct combinatorial assembly in the promoters of selected genes. *FEBS Lett* 1996; 394: 365-70.
151. Hemmann U, Gerhartz C, Heesel B, Sasse J, Kurapkat G, Grotzinger J, et al. Differential activation of acute phase response factor/Stat3 and Stat1 via the cytoplasmic domain of the interleukin 6 signal transducer gp130. II. Src homology SH2 domains define the specificity of stat factor activation. *J Biol Chem* 1996; 271: 12999-3007.
152. Kotenko SV. The family of IL-10-related cytokines and their receptors: related, but to what extent? *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13: 223-40.
153. Fickenscher H, Hor S, Kupers H, Knappe A, Wittmann S, Sticht H. The interleukin-10 family of cytokines. *Trends Immunol.* 2002; 23: 89-96.
154. Ozaki K, Leonard WJ. Cytokine and cytokine receptor pleiotropy and redundancy. *J Biol Chem* 2002; 277: 29355-8.
155. Dumoutier L, Renauld JC. Viral and cellular interleukin-10 (IL-10)- related cytokines: from structures to functions. *Eur Cytokine Netw* 2002; 13: 5-15.
156. Kotenko SV, Saccani S, Izotova LS, Mirochnitchenko OV, Pestka S. Human cytomegalovirus harbors its own unique IL-10 homolog (cmvIL-10). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 1695-700.
157. Gallagher G, Dickensheets H, Eskdale J, Izotova LS, Mirochnitchenko OV, Peat JD, et al. Cloning, expression and initial characterization of interleukin-19 (IL-19), a novel homologue of human interleukin-10 (IL-10). *Genes Immun* 2000; 1: 442-50.

158. Blumberg H, Conklin D, Xu WF, Grossmann A, Brender T, Carollo S, et al. Interleukin 20: discovery, receptor identification, and role in epidermal function. *Cell* 2001; 104: 9-19.
159. Dumoutier L, Van Roost E, Colau D, Renault JC. Human interleukin-10-related T cell-derived inducible factor: molecular cloning and functional characterization as an hepatocyte-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 10144-9.
160. Xie MH, Aggarwal S, Ho WH, Foster J, Zhang Z, Stinson J, et al. Interleukin (IL)-22, a novel human cytokine that signals through the interferon receptor-related proteins CRF2-4 and IL-22R. *J Biol Chem* 2000; 275: 31335-9.
161. Llorente L, Richaud-Patin Y, Fior R, Alcocer-Varela J, Wijdenes J, Fourier BM, et al. In vivoproduction of interleukin-10 by non-T cells in rheumatoid arthritis, Sjogren's syndrome, and systemic lupus erythematosus. A potential mechanism of B lymphocyte hyperactivity and autoimmunity. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 1647-55.
162. Takada M, Toyama H, Tanaka T, Suzuki Y, Kuroda Y. Augmentation of interleukin-10 in pancreatic islets after brain death. *Transplant Proc.* 2004; 36: 1534-6.
163. Waal Malefyt R, Haanen J, Spits H, Roncarolo MG, te Velde A, Figdor C, et al. Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce
164. Van Deventer SJH, Van Der Poll T. Interleukin-10: A Cytokine with Multiple Anti Inflammatory and Some Proinflammatory Activities. In: Ciliberto G, Svino R, editors. *Cytokine Inhibitors*. New York: Marcel Dekker Inc 2000. P.33-51
165. Groux H, Bigler M, de Vries JE, Roncarolo MG. Inhibitory and stimulatory effects of IL-10 on human CD8+ T cells. *J Immunol* 1998; 160: 3188-93.
166. Dickensheets HL, Freeman SL, Smith MF, Donnelly RP. Interleukin-10 upregulates tumor necrosis factor receptor type-II (p75) gene expression in endotoxin-stimulated human monocytes. *Blood* 1997; 90: 4162-71.

167. Hedrick JA, Helms A, Vicari A, Zlotnik A. Characterization of a novel CC chemokine, HCC-4, whose expression is increased by interleukin-10. *Blood* 1998; 91: 4242-7.
168. Bogdan C, Vodovotz Y, Nathan C. Macrophage deactivation by interleukin 10. *J Exp Med* 1991; 174: 1549-55.
169. Clarke CJ, Hales A, Hunt A, Foxwell BM. IL-10-mediated suppression of TNF-alpha production is independent of its ability to inhibit NF kappa B activity. *Eur J Immunol* 1998; 28: 1719-26.
170. Brown CY, Lagnado CA, Vadas MA, Goodall GJ. Differential regulation of the stability of cytokine mRNAs in lipopoly saccharide activated blood monocytes in response to interleukin-10. *J Biol Chem* 1996; 271: 20108-12.
171. Kubin M, Kamoun M, Trinchieri G. Interleukin 12 synergizes with B7/CD28 interaction in inducing efficient proliferation and cytokine production of human T cells. *J Exp Med* 1994; 180: 211-22.
172. *Mol Cell Biochem* (2010) 337:145–152
173. Mertz PM, DeWitt DL, Stetler-Stevenson WG, Wahl LM. Interleukin 10 suppression of monocyte prostaglandin H synthase-2. Mechanism of inhibition of prostaglandin-dependent matrix metalloproteinase production. *J Biol Chem* 1994; 269: 21322-9.
174. Niiro H, Otsuka T, Tanabe T, Hara S, Kuga S, Nemoto Y, et al. Inhibition by interleukin-10 of inducible cyclooxygenase expression in lipopolysaccharide stimulated monocytes: its underlying mechanism in comparison with interleukin-4. *Blood* 1995; 85: 3736-45.
175. O'Garra A, Steinman L, Gijbels K. CD4C T-cell subsets in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 872-83
176. Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell* 1996; 85: 291-7.
177. Eskdale J, Kube D, Tesch H, Gallagher G. Mapping of the human IL10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence. *Immunogenetics* 1997; 46: 120-8.

178. Opdal SH. IL-10 gene polymorphisms in infectious disease and AIDS. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 42: 48-52.
179. Eskdale J, Keijsers V, Huizinga T, Gallagher G. Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP) combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10 (IL-10) locus. *Genes Immun.* 1999; 1: 151-5.
180. Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1101-8.
181. Kingo K, Ratsep R, Koks S, Karelson M, Silm H, Vasar E. Influence of genetic polymorphisms on interleukin-10 mRNA expression and psoriasis susceptibility. *J Dermatol Sci* 2005; 37: 111-3.
182. Ma SL, Tang NL, Lam LC, Chiu HF. The association between promoter polymorphism of the interleukin-10 gene and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2005; 26: 1005-10.
183. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse helper T cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; 170: 2081-95
184. Reynier F, Cazalis MA, Lecoq A, Paye M, Rosa A, Durand A, et al. Lack of association of IL-10 promoter gene variants with type 1 diabetes in a French population. *Hum Immunol* 2006; 67: 311-7.
185. Hara M, Kingsley CI, Niimi M, Read S, Turvey SE, Bushell AR, Morris PJ, Powrie F, Wood KJ. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens *in vivo*. *J Immunol.* 2001 15; 166: 3789-96.
186. Tegoshi H, Hasegawa G, Obayashi H, Nakano K, Kitagawa Y, Fukui M, et al. Polymorphisms of interferon-gamma gene CA-repeat and interleukin-10 promoter region (-592A/C) in Japanese type I diabetes. *Hum Immunol* 2002; 63: 121-8.

187. Urcelay E, Santiago JL, de la Calle H, Martinez A, Figueredo A, Fernandez-Arquero M, de la Concha EG. Interleukin-10 polymorphisms in Spanish type 1 diabetes patients. *Genes Immun.* 2004; 5: 306-9.
188. Reynier F, Cazalis MA, Lecoq A, Paye M, Rosa A, Durand A, et al. Lack of association of IL-10 promoter gene variants with type 1 diabetes in a French population. *Hum Immunol* 2006; 67: 311-7.
189. Deutsches Herzzentrum München and 1 Medizinische Klinik rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany Received 26 October 2000; received in revised form 15 January 2001; accepted 31 January 2001.
190. Fragoso JM, Vallejo M , Alvarez-Leon E , H Delgadillo , Peña-Duque MA , Cardoso-Saldaña G , Posadas-Romero C , Martinez-Ríos MA , Vargas-Alarcón G . *Sitokin* 2011 May; 55 (1) :29-33