

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

**DENEYSEL HİPERHOMOSİSTEİNEMİDE ARTAN AORTİK  
VCAM-1 EKSPRESYONUNA MELATONİNİN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Adil BAYDAŞ**

**TEZ YÖNETİCİSİ  
Doç. Dr. Mehmet AKBULUT**

**ELAZIĞ  
2010**

**DEKANLIK ONAYI**

Prof.Dr. İrfan ORHAN

**DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

\_\_\_\_\_  
Prof.Dr. Iğın KARACA

**Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mehmet AKBULUT \_\_\_\_\_

**Danışman**

**Uzmanlık Jüri Üyeleri**

..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Kardiyoloji uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, kişisel ve mesleki gelişimime katkıda bulunan değerli hocalarım; Prof. Dr. İ. Nadi ARSLAN, Prof. Dr. Iğın KARACA, Doç. Dr. Mehmet AKBULUT, Doç. Dr. Yılmaz ÖZBAY, Doç. Dr. Mustafa F. YAVUZKIR ve Yard. Doç. Dr. M. Necati DAĞLI'ya teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm asistan ve uzman olmuş arkadaşlarıma, koroner yoğun bakım ve kardiyoloji servisinde çalışan tüm hemşire, personel ve kliniğimiz çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu tezin oluşum aşamasında birlikte çalıştığımız tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet AKBULUT'a, Prof. Dr. İbrahim ÖZERCAN ve Yard. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya teşekkür ederim.

Tüm hayat boyu olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini bir an bile eksik etmeyen sevgili annem, babam, eşim ve kardeşlerime teşekkür ederim.

## ÖZET

Hiperhomosisteinemi günümüzde kardiyovasküler ve serebrovasküler bozukluklarda en önemli risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Homosistein kaynaklı ateroskleroz için birçok mekanizma ortaya konulmuştur. Bununla birlikte asıl moleküler mekanizma henüz bilinmemektedir. VCAM-1 immünoglobulin gen süperailisinin endotelial adezyon molekülü olup arterlerin iç membranında monosit kümelenmesini teşvik ederek aterojenize neden olan proteindir. Pineal bezin başlıca hormonu olan melatoninin vasküler sistem üzerinde koruyucu etkisinin olduğu ve bunu da kısmen adezyon moleküllerinin ekspresyonunu inhibe ederek ve bunun sonucunda da nötrofil yoluyla oluşan hücresel hasarı engelleyerek gösterdiği bilinmektedir.

Melatonin uygulanmasının hiperhomosisteinemili ratların aortlarında VCAM-1 adezyon moleküllerinin ekspresyonunu araştırmak amacıyla bu çalışmada 30 adet erkek Wistar albino rat üç gruba ayrılarak gruplar; kontrol (K), homosistein (hcy) ve homosistein + melatonin (hcy + mel) şeklinde belirlendi. Uygulama 45 gün sürdü. Serum homosistein düzeyleri; kontrol grubundaki ratlarda  $3,07 \pm 0,09$   $\mu\text{mol/L}$ , metiyonin ile beslenen ratlarda  $11,00 \pm 0,51$   $\mu\text{mol/L}$ , metiyonin ile beslenen ratlarda melatonin uygulanmasıyla  $4,01 \pm 0,24$   $\mu\text{mol/L}$  olarak bulundu. Kontrol ve hcy + mel gruplarının histopatoloji örneklerinde damar endotelinde hafif (+), hcy grubunun endotelinde ise şiddetli (+++) VCAM-1 ekspresyonu gözlemlendi. Melatonin uygulanması kanda homosistein seviyelerini azaltarak VCAM-1 ekspresyonlarını düşürdüğü gözlemlendi.

Sonuç olarak hiperhomosisteinemide artan VCAM-1 ekspresyonunun monositlerin damar duvarına adezyonundan sorumlu olabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda homosisteinin aterojenik etki oluşturabileceği ve VCAM-1 ekspresyonunun inflamatuvar cevabı artırması ile damar duvarına lökositlerin gelmesini ve aktive olmasını sağladığı ifade edilebilir. Bununla birlikte, homosistein seviyelerinin azalmasına paralel olarak, melatonin aorta VCAM-1 ekspresyonunu oldukça baskılamıştır, bu da kemokin ile oluşan mekanizmaları içeren melatonin terapisinin antiinflamatuvar etkilerini düşündürmektedir; böyle etkiler aterosklerotik hastalarda faydalı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Hiperhomosisteinemi, Ateroskleroz, VCAM-1, Melatonin

**ABSTRACT**

**EFFECT OF MELATONIN ON THE INCREASED EXPRESSION OF  
AORTIC VCAM-1 IN THE EXPERIMENTAL  
HYPERHOMOCYSTEINEMIA**

Currently hyperhomocysteinemia is accepted as an important risk factor for cardiovascular and cerebrovascular diseases. Several mechanisms were postulated for homocystein dependent atherosclerosis. However exact molecular mechanism is not still known. VCAM-1 is endothelial adhesion molecule of immunoglobulin gene super-family and it induces monocyte aggregation in the internal membranes of the arteries. Melatonin is major hormone of the pineal gland and it has protective effect on vascular system by partial inhibition of the expression of adhesion molecules and resultant inhibition of neutrophil mediated cell injury.

Thirty male Wistar albino rats were divided into 3 groups; control (C), homocystein (hcy) homocystein+melatonin (hcy+mel) for the effect of melatonin administration on VCAM-1 adhesion molecule expression in hyperhomocysteinemic rats. Serum homocystein levels were  $3,07 \pm 0,09 \mu\text{mol/L}$  in control group,  $11,00 \pm 0,51 \mu\text{mol/L}$  in methionine feeded group and  $4,01 \pm 0,24 \mu\text{mol/L}$  in concomitant methionine feeded and melatonin supplied rats. Mild (+) VCAM-1 expression was observed in control and hcy+mel groups rat endothelium where as severe (+++) expression was observed in hcy group. Melatonin administration was decreased the VCAM-1 expression by lowering the blood homocystein levels.

In conclusion it was thought that increased VCAM-1 expression in hyperhomocysteinemia might be responsible for adhesion of monocytes to endothelial wall. We can say that homocysteine may cause atherogenesis and VCAM-1 expression causes leukocyte migration and activation by increasing the inflammatory response according to our findings. Beside this, melatonin was significantly depressed the aortic VCAM-1 expression parallel to decrease in blood homocysteine levels. We think that these are due to anti-inflammatory effects of melatonin including chemocine induced mechanisms and these effects may be useful in atherosclerotic patients.

**Key words:** hyperhomocysteinemia, atherosclerosis, VCAM-1, melatonin

## İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR</b>	<b>x</b>
<b>1.GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Ateroskleroz	1
1.1.1. Arter Duvarının Anatomik Yapısı	1
1.1.2. Aterosklerotik Lezyonlar	2
1.1.3. Aterosklerozda Risk Faktörleri	3
1.1.4. Aterosklerozun Patogenezi	4
1. 1. 4. 1. Endotel Disfonksiyonu	5
1. 1. 4. 2. İnflamasyon	6
1.2. Homosistein	7
1.2.1 Homosistein Metabolizması	8
1.2.1.1. Transmetilasyon	8
1.2.1.2. Remetilasyon	9
1.2.1.3. Transsülfürasyon	10
1.2.2. Homosistein Metabolizmasının Regülasyonu	10
1.2.3. Plazmadaki Homosistein Formları	12
1.2.4. Hiperhomosisteinemi	13
1.2.5. Hiperhomosisteinemi Nedenleri	13
1.2.6. Hiperhomosisteinemi Tedavisi	13
1.2.7. Hiperhomosisteineminin Patojenik Mekanizmaları	15
1.3. Adezyon Molekülleri	17
1.3.1. İntegrinler	17
1.3.2. Kaderinler	18
1.3.3. Sınıflandırılmayan Adezyon Molekülleri	18
1.3.4. İmmünglobulin Süper Ailesi	18

1.3.5. Selektinler	20
1.4. Melatonin	21
1.4.1. Melatonin sentezi ve salgılanması	21
1.4.2. Melatoninin etkileri	22
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>24</b>
2.1. Deney Hayvanları	24
2.2. Deneysel Uygulamalar	24
2.2.1. Serum Homosistein Düzeylerinin Ölçülmesi	25
2.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem:	25
2.3. İstatistiksel Analizler	27
<b>3. BULGULAR</b>	<b>28</b>
3.1. Ratlara Metiyonin Verilmesinin Serum Homosistein Düzeyine Etkisi	28
3.2. İmmunohistokimya	29
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>31</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>35</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>50</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Ateroskleroz risk faktörleri	4
<b>Tablo 2.</b> Plazmadaki homosistein formları.	12
<b>Tablo 3.</b> Plazma total homosistein düzeyleri	13
<b>Tablo 4.</b> Plazma homosistein düzeylerini etkileyen faktörler	14
<b>Tablo 5.</b> Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi	24
<b>Tablo 6.</b> Total serum homosistein düzeyleri	28

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> Homosistein ve metiyoninin yapısı	7
<b>Şekil 2.</b> Homosistein Metabolizması	11
<b>Şekil 3.</b> Homosistein düzeyleri	28
<b>Şekil 4.</b> Grup I damar endotelinde VCAM-1 ekspresyonu	29
<b>Şekil 5.</b> Grup II damar endotelinde VCAM-1 ekspresyonu	29
<b>Şekil 6.</b> Grup III damar endotelinde VCAM-1 ekspresyonu	30

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ABC</b>	: Avidin-biyotin-peroksidaz kompleks
<b>AEC</b>	: Aminoetil Karbazol
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>BHMT</b>	: Betain-homosistein metil transferaz
<b>Ca<sup>++</sup></b>	: Kalsiyum
<b>cAMP</b>	: Siklik adenozin monofosfat
<b>CBS</b>	: Sistasyonin $\beta$ -sentaz
<b>CRP</b>	: C reaktif proteini
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>ELİSA</b>	: Enzyme linkend-immunosorbet assay
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GSSG</b>	: Glutasyon disülfid
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>Hcy</b>	: Homosistein
<b>HHcy</b>	: Hiperhomosisteinemi
<b>HIOMT</b>	: İndol-O-metiltransferaz
<b>ICAM-1</b>	: İnterselüler Hücre Adezyon Molekülü-1
<b>Ig</b>	: İmmunoglobulin
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>kDa</b>	: Kilo Dalton
<b>LDL</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein
<b>LFA-1</b>	: Lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1
<b>LPO</b>	: Lipit peroksidasyon
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>MAC-1</b>	: Makrofaj antijen kapsul-1
<b>MAT</b>	: Metiyonin S-adenozil transferaz
<b>MCP-1</b>	: Makrofaj kemotaktik protein-1
<b>MEL</b>	: Melatonin

<b>mRNA</b>	: Haberci ribonükleik asit
<b>MS</b>	: Metiyonin sentaz
<b>MSS</b>	: Merkezi sinir sistemi
<b>MTHFR</b>	: Metilentetrahidrofolat redüktaz
<b>5,10-MTHF</b>	: 5,10-metilen tetrahidrofolat
<b>NAT</b>	: N-asetil transferaz
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup></b>	: Süperoksit anyon radikali
<b>°C</b>	: Santigrat derece
<b>OH<sup>·</sup></b>	: Hidroksil radikali
<b>PBS</b>	: Phosphate-buffered solusyonu
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>SAH</b>	: S-adenozil-L-homosistein
<b>SAM</b>	: S-adenozil metiyonin
<b>THF</b>	: Tetrahidrofolat
<b>ΔMTHFR</b>	: Termolabil Metilentetrahidrofolat redüktaz varyantı
<b>TNF-alfa</b>	: Tümör nekroz faktör-alfa
<b>t-PA</b>	: Doku plazminojen aktivatörü
<b>tRNA</b>	: Taşıyıcı ribonükleik asit
<b>VCAM-1</b>	: Vasküler hücre adezyon molekülü-1

# 1.GİRİŞ

## 1.1. Ateroskleroz

Ateroskleroz, arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikmesine karşı gelişen karmaşık bir inflamatuvar- fibroproliferatif yanıttır. Fiziksel ya da kimyasal çeşitli faktörler tarafından endotel tabakada meydana getirilen hasar hastalık sürecinin ilk evresini oluşturur. Lipit metabolizmasının bozulması, lipitce zengin makrofajların ve lenfositlerin arter intimasında birikmesi sonucu yağlı çizgi olarak adlandırılan lezyon oluşur. Yağlı çizgi oluşumunu takiben, lipit birikiminin artması, düz kas hücre göçünün ve çoğalmasının devam etmesi ile buna eşlik eden hücreler arası matriks elemanlarının sentezinin artması sonucu daha kompleks ve damar lümenini daraltan bir lezyon olan fibroz plak gelişir (1).

### 1.1.1. Arter Duvarının Anatomik Yapısı

Arter duvarı üç tabakadan oluşur: Tunika intima, tunika media, tunika adventisya (2, 3).

**Tunika İntima:** Arter duvarının en iç tabakası olan tunika intima, arter lümenini döşeyen tek katlı yassı endotel hücreleri ve bunun altında bulunan gevşek konnektif dokudan oluşmaktadır. Tunika intima iki tabakadan oluşur. Lümenin altında bulunan iç tabaka proteoglikan tabaka olarak adlandırılır ince bir ağ yapısında fibröz olmayan bir proteoglikan zemin maddesinden oluşur. Bu tabakada elastik lifler nadir olarak bulunur. Tunika media tabakasından internal elastik lamina adı verilen yoğun bir elastik membran ile ayrılır. Elastinden oluşan internal elastik lamina subendotel tabakanın altında bulunur ve hücreleri beslemek üzere arter duvarının iç kısımlarına maddelerin difüzyonuna olanak sağlayan delikli bir yapıdadır.

**Tunika Media:** İnternal elastik laminadan eksternal elastik laminaya kadar uzanan tabakadır. Tunika mediyı oluşturan ortak merkezli hücre tabakaları çoğunlukla helikal olarak düzenlenmiş düz kas hücrelerini içerir. Düz kas tabakaları arasında elastik lifler, kollajen ve proteoglikanlar bulunur. Düz kas hücreleri birbirlerine 'Gap junction'larla bağlıdır ve etrafını kollajen lifler çevirir.

**Tunika Adventisya:** Arterin en dış tabakası olan tunika adventisya, çoğunlukla fibroblastları, tip I kollajen liflerini ve uzunluğuna yönlenmiş elastik lifleri içeren gevşek bir bağ dokusundan oluşmuştur. Damar duvarının dış yüzünü besleyen küçük kan damarları (vaso vasorum) ve sinir uçları bu tabakada bulunur.

### 1.1.2. Aterosklerotik Lezyonlar

Amerikan Kalp Birliđi Damar Lezyonları Komitesi, lezyonun ilerleme sürecini sekiz değişik safhaya ayıran yeni bir sınıflama öne sürmüştür (3).

#### **Amerikan kalp derneđine göre plak gelişimi ve evreleri:**

**Tip I lezyon:** En erken lezyondur ve minör lipid birikimleri ve seyrek makrofaj köpük hücreleri ile karakterizedir. Doğumdan hemen sonra bebeklerin % 45'inde tip I lezyon vardır. Bu lezyonlar çocukluğun ilk yıllarında azalır ama 10 yaş civarında tekrar artar (3).

**Tip II lezyon:** Makrofaj köpük hücreleri daha fazla sayıdadır ve klasik olarak yağlı çizgilenmeler şeklinde organize olmuşlardır. Tip II lezyonlarda az miktarda T hücreleri, mast hücreleri ve lipidle dolu düz kas hücreleri de vardır (3).

**Tip III lezyon:** Klasik patoloji tarafından, aterosklerotik plak veya aterom olarak tanımlanan ilk safhayı yansıtır. Tip II lezyona göre en önemli ayırt edici özelliği, küçük extrasellüler lipid depozitlerinin varlığıdır (3).

**Tip IV lezyon:** Ekstrasellüler lipid miktarı artmıştır ve hücreden yoksun bir kolesterol depozit havuzu oluşmuştur. Lipid çekirdeği, enflamatuar hücreler tarafından çevrelenmiş ve ince bir düz kas hücre tabakası ile bağ dokusu tarafından kaplanmıştır. Bu safhada orijinal lümen hacmini korumak için, arterde yeniden yapılanma oluşur. Damarın dış kontürü oval şekil alır ve sonuç olarak bu lezyonların anjiyografi ile görüntülenmeleri zordur. Bu lezyonların hızla semptom oluşturan yırtılmalara yol açan potansiyelleri vardır (3).

**Tip V lezyon:** Tip IV lezyonlara göre daha fazla fibroz doku içermelerine rağmen yırtılmaların çoğu halen bu lezyon tipinde gerçekleşir. Kapsül oluşmuştur (3).

**Tip VI lezyon:** Trombotik depozitler veya kanama içeren plaklardır. Tip VI lezyonların gelişmesinin temel nedeni plak yırtılmasıdır ve subendotelial fibroz dokuda fissürler, erozyonlar ve ülserasyonlar sık olarak gözlenir (3).

**Tip VII ve tip VIII lezyonlar:** Lipid içermeyen veya az miktarda lipid içeren kalsiyum depozit kitleleri içeren (tip VII lezyonlar) veya ön planda kollajenden oluşan (tip VIII lezyonlar) ilerlemiş lezyonlardır. Bu lezyonların hastalığın son safhasını yansıttığına inanılmaktadır. Tip VIII lezyonlar, tip V ve tip VI lezyonlara göre daha stabildir (3).

### 1.1.3. Aterosklerozda Risk Faktörleri

Arterioskleroz, arter duvarlarının esnekliğini kaybetmek üzere sertleşip kalınlaşması ve lümeninin daralması ile karakterize olan damarsal hastalıkların genel terimidir. Arteriosklerozun en önemli morfolojik formu olan ateroskleroz, arterin intima tabakasında yaygın yağ plaklarının oluşması ile belirgin damar sertleşmesidir ve başlıca hedefi aorta, koroner ve serebral arterlerdir (4). Ateroskleroz, koroner kalp hastalığının başlıca nedenidir ve gelişmiş ülkelerde en başta gelen ölüm nedenleri arasındadır (5).

Ateroskleroz, farklı risk faktörlerinin etkili olduğu multifaktöriyel bir hastalıktır. Aterosklerozun gelişimine iştirak eden bazı risk faktörleri sabittir ve önlenemez. Bu yapısal risk faktörleri arasında, yaş, cinsiyet ve ailesel yatkınlık bulunur (4). Erken aterosklerotik lezyonlar genellikle on yaşından önce başlasa da aterosklerozun insan yaşamı üzerindeki etkisi daha geç yaşlarda ortaya çıkar. Aterosklerozun prevalansı yaş ile birlikte artar. Her ne kadar bu faktörle ilgili çok az bilgi mevcut olsa da, artan riskin diğer risk faktörlerine maruz kalma süresinin uzaması ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Cinsiyet, aterosklerozda önemli bir rol oynar. Erkekler, kadınlara oranla ateroskleroza daha yatkındır. Kardiyovasküler hastalık insidansının 60 yaşının altındaki erkeklerde, kadınlara oranla iki kat yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu, dişi hormonlarının koruyucu bir etkisi olmasıyla açıklanabilir. Kadınlarda menopozdan sonra bu etki azaldığında, risk her iki cins arasında eşitlenir (6). Ailesel yatkınlık ise farklı şekillerde olabilir. Bazı durumlarda hipertansiyon, diyabet gibi farklı risk faktörlerinin ailesel bir birleşmesi söz konusu olabilir. Bunun yanında, lipoprotein metabolizmasının herhangi bir düzeyinde bulunan bir bozukluk da aterosklerozda ailesel bir yatkınlık oluşturabilir (7).

Hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara içimi ve diyabet gibi kazanılmış risk faktörleri kısmen de olsa önlenemez faktörlerdir (4). Hiperlipidemi, ateroskleroz için genel olarak tanımlanan en önemli risk faktörüdür. Ateroskleroz patogeneğinde en önemli etken yüksek kolesterol düzeyidir, bunun yanında, hiperkolesterolemi kadar etkili olmasa da hipertrigliseridemi de rol oynar (6). Yüksek LDL-kolesterol düzeyinin ateroskleroza eğilimi arttırdığı, bunun yanında yüksek HDL-kolesterol düzeyinin de koruyucu bir rolü olduğuna dair bulgular mevcuttur (8). Stres, obezite, sedenter yaşam biçimi, hiperürisemi, oral kontraseptif kullanımı, yüksek karbonhidrat alımı da diğer önemli risk faktörleri olarak kabul edilir (9).

Son yıllarda, geleneksel risk faktörleri dışında, aterosklerozun gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülen diğer faktörlere dair bulgular elde edilmiştir. Bu yeni risk faktörleri (bağımsız risk faktörleri) arasında yüksek plazma homosistein düzeyinin aterosklerotik vasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğu kabul edilmiştir (10). İn vivo ve in vitro ortamda yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, yüksek homosistein düzeylerinin neden olduğu muhtemel vasküler hasar mekanizmalarını önermektedir; endotel hücre hasarı, vasküler düz kas hücreleri üzerine mitojenik etkileri, faktör V'in aktivasyonu, protein C'nin inhibisyonu, doku tipi plazminojen aktivatörünün (tPA) aktivasyonu, artmış platelet agregasyonu önerilen mekanizmalar arasındadır (11). Hasarlanmış fibinolizis, artmış platelet reaktivitesi, hiperkoagübilite, lipoprotein (a), inflamatuvar-enfeksiyöz belirleyiciler, aterosklerozun patogenezinde rol oynayan yeni risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (10, 12). Ateroskleroza neden olabilecek risk faktörleri tablo-1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Ateroskleroz risk faktörleri

Geleneksel Faktörler		Yeni Risk Faktörleri
Sabit Faktörler	Modifiye Edilebilen	
Yaş	Sigara	C-Reaktif Protein
Aile Hikayesi	Hipertansiyon	Homosistein
Etnik köken	Hiperlipidemi	Lipoprotein-a
Cinsiyet	Diyabet, insulin rezistansı	Fibrinojen
	Obesite	Fibrin
	Sedanter yaşam	D-Dimer

#### 1.1.4. Aterosklerozun Patogenezi

Aterosklerozun patogenezi açıklanmaya yönelik birçok çalışma yapılmış ve çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Bugün en fazla kabul gören teoriler arasında; düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidatif modifikasyon teorisi, hemodinamik bozukluklar teorisi ve 'hasara cevap' hipotezi bulunur.

İlk olarak 1913'te Anitschow tarafından aterosklerozun damar duvarında lipid birikmesi ile oluştuğu gösterildi (13). Bu teori, lipidleri yüksek olanlardaki ateroskleroza izah edebilmekle beraber yeterli olmadığı için 1956'da Virchow

tarafından hasara yanıt hipotezi ileri sürüldü. Aterosklerozla ilgili dejeneratif değişikliklerin hasara karşı arteriyel intimanın iyileşme şeklindeki yanıtı sonucunda oluştuğuna inanıldı (13).

Russel Ross ve John Glomset (13). 1973'te hasara yanıt hipotezini yeniden düzenleyerek endotel yaralanması veya hasarına karşı, aşırı damar düz kası hücresi proliferasyonu sonucunda, aterom plağın oluşumunu gösterdiler. Son çalışmalar, Ross'un hipotezinin devamı olarak, endotelial disfonksiyonun ateroskleroz temelinde rol oynadığını ve inflamasyonun, aterosklerozun her basamağında en göze çarpan özellik olduğunu göstermiştir. Bu sürecin merkez rolünü alan hücreler; endotel, inflamatuvar ve düz kas hücreleridir (14-16). Aterosklerozla ilgili olarak yapılan çalışmalarda ve çok değişkenli analizlerde risk faktörü olarak belirlenen yaş, cinsiyet, aile öyküsü, sigara, hipertansiyon, hiperlipidemi, DM ve metabolik sendrom major risk faktörleri şeklinde adlandırılır ve tüm hasta gruplarındaki risk artışının %90'ından sorumludur (16-18).

Ateroskleroz, arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikmesine karşı gelişen karmaşık bir inflamatuvar- fibroproliferatif yanıttır. Aortadan epikardiyal koroner arterlere dek değişen büyüklükte sistemik arterleri etkileyebilir. İleri evrelerde çeşitli lezyonlar birarada görülebilirse de intimal plaklar karakteristik lezyondur. Plaklar daha çok lümen yüzeyi ile düşük dansiteli lipoprotein (LDL) gibi kandaki partiküller arasında etkileşim süresinin artmış olduğu dallanma bölgelerine yakın kısımda yerleşir. Bu durum, lipoproteinlerin transendotelial difüzyonunda artış ve hiperlipidemi varlığında subendotelial matrikste lipid birikiminde artış ile ilişkilidir. Homosisteinin yüksek düzeyleri de endotel tabakasında hasara yol açarak vasküler permeabiliteyi artırır (15).

#### **1. 1. 4. 1. Endotel Disfonksiyonu**

Endotel disfonksiyonu, aterosklerozun patogenezindeki ilk temel basamağı oluşturur. Endotel kan ve diğer dokular arasında aktif bir biyolojik arabirimdir. Arter ve venleri kaplayan tek tabakalı endotel dokusu kan ile potansiyel olarak trombojenik subendotelial dokular arasında tromborezistan bir tabaka oluşturur. Endotel aynı zamanda vasküler tonusu ayarlar, dolaşım sistemi boyunca hemostaz ve inflamasyonu düzenler. Humoral, nöral ve mekanik uyarılara vazoaktif olarak cevap verebilen ve aterojenezi engelleyen karmaşık bir yapıya sahiptir (14, 16). Vasküler

endotelin, kendisine yönelik bazı tehditlere karşı gösterdiği inflamatuvar ve fibroproliferatif cevap ateroskleroz gelişiminde önemlidir. Normal koşullarda endotel, damarı nispeten dilate bir durumda tutmak için çalışır. Bununla birlikte, endotel, shear stres gibi birçok fiziksel uyarıya cevap verme kapasitesine sahiptir. Damarlar shear strese cevap olarak genişler (akım bağımlı dilatasyon). Bu endotel bağımlı cevap endotelden salgılanan nitrik oksit ile düzenlenir. Aterogenezin temel basamağı olan endotel disfonksiyonu nitrik oksit üretimi veya sunumundaki azalma ile birlikte vazokonstriktör faktörler ile aradaki dengenin bozulması ile başlar. Nitrik oksit, vasküler hasarlanma, inflamasyon ve tromboza karşı da koruyucu etki gösterir. Endotele lökosit adezyonunu engeller, düz kas hücre proliferasyonu ve trombosit agregasyonunu önler (16) Endotel disfonksiyonu, okside olmuş düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oluşturduğu yüksek oksidatif stres ile başlar. Artmış serbest oksijen radikalleri de nitrik oksit moleküllerine bağlanarak inaktivasyonuna yol açar. Yine bir vazokonstriktör olan Anjiyotensin II, NO etkisine zıt etkiler gösterir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırır, proinflamatuvar sitokin düzeylerinde artışa yol açar (19, 20) CRP' nin de NO aktivitesini azaltıp endotel disfonksiyonuna yol açtığına dair yayınlar mevcuttur (21)

Sonuç olarak, risk faktörleri sonucunda endotel disfonksiyonun başlaması ile damar duvarında monositler endotele tutunmaya başlar, inflamasyon tetiklenir ve aterosklerotik lezyon gelişimi başlar (14-16)

#### **1. 1. 4. 2. İnflamasyon**

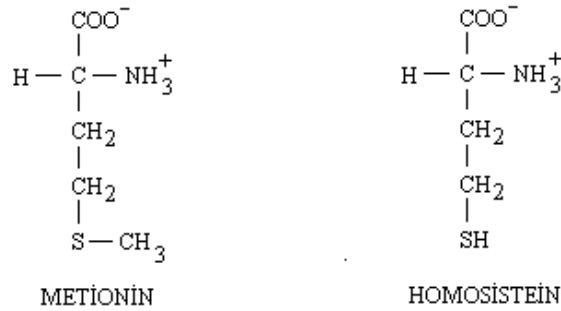
Plazmada LDL düzeyleri yükseldiği zaman çok miktarda LDL endotelden geçerek intimaya girer. Bu bölgede mikrodamarlar yetersiz olduğu için LDL'nin intimadan temizlenmesi sınırlıdır. LDL, intimada agregasyon, oksidasyon ve LDL partiküllerinin parçalanmasını içeren bir seri değişime uğrar. Bu olasılıkla doku makrofajlarınca salınan oksijen radikallerinin LDL'e saldırısıyla gerçekleşir (22, 23) Aterojenik ve proinflamatuvar uyarı ile aktive olan endotel, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır (ICAM-1, VCAM-1, e-selektin, p-selektin), monositlerin ve T-lenfositlerin bölgeye göçü başlar. Proinflamatuvar sitokinler olan C reaktif protein (CRP), IL-1, okside LDL, tümör nekroz faktör-alfa (TNF-alfa) ve CD40 ligand etkileşimi, adezyon moleküllerini aktive eder.

Kan kaynaklı hücrelerin endotele adezyonu tek başına yeterli değildir, transendotelial göç de gereklidir. Bunun için, bir veya daha fazla kemoatraktan ihtiyacı vardır. Deneysel çalışmalara göre en önemli aterojenik kemoatraktanlar okside LDL ve makrofaj kemotaktik protein-1 (MCP-1)' dir. Endotel hücreleri tarafından salınan adezyon molekülleri, güçlü kemokinler okside LDL ve MCP-1 monosit ve T hücrelerini güçlü bir şekilde çekerler ve endotele yapışmasını sağlarlar (19, 22, 23)

### 1.2. Homosistein

Homosistein (Hcy; HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(NH<sub>2</sub>)CO<sub>2</sub>H, 2-amino-4-merkaptobutirik asit), beslenme ile alınan metiyonin aminoasidinin metabolizması esnasında bir ara ürün olarak oluşan, proteinlerin yapısına katılmayan, sülfür içeren bir aminoasittir (24-26). İlk kez 1932 yılında Du Vigneaud tarafından insülin ile ilgili çalışmalar yapılırken elde edilmiştir (27, 28).

Metiyoninin demetilasyonu ile oluşmuş bir tiol olan homosisteinin yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.



**Şekil 1.** Homosistein ve metiyoninin yapısı

Homosistein metabolizmasında önemli bir yere sahip olan metiyonin; proteinlerin sentezinde, transmetilasyon reaksiyonlarında, poliaminlerin sentezinde, sistatyonin, sistein ve transsülfürasyon yolunun diğer ürünlerinin oluşumunda, hücre içi folat metabolizması ve kolin katabolizması için gerekli olan homosisteinin sağlanması gibi biyolojik süreçlerde rol oynar ve memelilerin normal büyüme ve gelişimi için esansiyel bir aminoasittir (29).

Homosisteinin klinik önemi, 1962 yılında sistatyonin-β-sentaz (CBS) eksikliğine bağlı olarak oluşan homosistinüri hastalığı dolayısıyla ortaya çıkmıştır.

Bu hastalıkta trombotik olaylar, prematür ateroskleroz ve mental gerilik görülür (30, 31). Homosisteinürideki bu bulgular ile homosistein düzeyi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (31). Benzer şekilde tromboembolik olayların kobalamin eksikliği ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzim eksikliği gibi hiperhomosisteinemi oluşturan bozukluklarda da gözlenmesi, homosistein-vasküler hastalık bağlantısı üzerindeki düşünceleri pekiştirmiştir (32).

Homosistein; serebrovasküler, periferik vasküler, koroner kalp hastalığı ve tromboz için bağımsız bir risk faktörü olup (33-35); aterosklerotik damar hastalıkları ile hiperhomosisteinemi arasındaki ilişki yaş, hipertansiyon, dislipidemi, sigara ve şişmanlık gibi diğer risk faktörlerinden bağımsızdır (36).

Yapılan çalışmalarda, homosisteinin tromboz, merkezi sinir sistemi (MSS) gelişim bozuklukları ve nörodejeneratif hastalıklar, depresyon ve şizofreni gibi psikiyatrik bozukluklar ve bazı kanserlerle ilişkili olabileceği gösterilmiştir (33).

### **1.2.1 Homosistein Metabolizması**

Homosistein, metiyonin metabolizmasının ayrılmaz bir bileşenidir. Metiyonin transmetilasyon yolu ile homosisteine dönüşür. Bir kez homosistein oluştuktan sonra ya remetilasyon yolu ile tekrar metiyonine dönüşür yada transsülfürasyon yolu ile sistatyonin ve sisteine metabolize edilir (37).

Stabil izotopla işaretleme metodunun metiyonin metabolizmasına uygulanmasıyla transmetilasyon, remetilasyon ve transsülfürasyon yollarının insandaki dağılımı gösterilebilmiştir (38). Genç erişkinlerde 1-1.5 gr./kg/gün protein alındığında oluşan homosisteinin yaklaşık % 43 remetile olurken, % 57'si transsülfürasyon yoluyla metabolize edildiği gösterilmiştir (39).

#### **1.2.1.1. Transmetilasyon**

Metiyonin metabolizması, metiyonin adenzil transferaz (MAT) enzimi aracılığı ile kükürt atomuna ATP'den bir adenzil grubunun transferi sonucu S-adenozil-L-metiyonin (SAM) oluşması ile başlar. SAM metil grubunu kolaylıkla bir alıcıya vererek S-adenozil-L-homosisteine (SAH) dönüşmektedir. SAH ise reversible bir enzim olan SAH hidrolaz enzimi ile adenzin ve homosisteine metabolize edilir. Bu reaksiyonlar transmetilasyon olarak adlandırılır. S-adenozil-L-metiyonin (SAM) metiyonin metabolizmasında anahtar bir ara üründür (33,34). Oluşumu için ATP gereklidir ve bu reaksiyonda ATP'nin üç fosforu da kullanıldığından yüksek enerjili

bir bileşiktir (40). 1953'de Catoni (41) tarafından keşfedilen SAM çok yönlü bir koenzimdir. S-adenozil-L-metiyonin (SAM) sadece bir metil grup vericisi olmayıp siklopropil yağ asit sentezinde metilen grup vericisi, biotin sentezinde amino grup vericisi, poliamin ve etilen sentezinde aminoizopropil grup vericisi ve 5'-deoksiadenozil radikal vericisidir (40). Ayrıca biotin ve lipoik asit sentezinde sülfür kaynağıdır (42).

Memelilerde SAM'ın büyük çoğunluğu metil transferaz reaksiyonlarında kullanılır. Bu reaksiyonlarda pozitif yüklü sülfonyum iyonu kendisine bağlanan metil grubunu elektron fakir hale getirir ve böylece ortamda elektron zengin alıcılar bulunduğu reaksiyon kolaylıkla gerçekleşir (40). SAM bu metil grubunu birçok alıcıya verebilir (aminoasit, DNA, RNA, fosfatidil serin, kreatinin metalleri...); memelilerde en az 60 çeşit metil transferaz reaksiyonları tanımlanmıştır (43-45).

#### **1.2.1.2. Remetilasyon**

Homosisteinin remetilasyon ile metiyonine dönüşümü iki enzimden biri aracılığı ile olur:

1- Metiyonin sentaz (MS; 5-metiltetrahydrofolat-homosisteinmetiltransferaz)

2- Betain-homosistein metiltransferaz (BHMT)

Homosisteinin remetilasyonu, 5-metiltetrahydrofolatı metil vericisi ve vitamin B<sub>12</sub>'nin bir formu olan metilkobalamini ise kofaktör olarak kullanan metiyonin sentaz (MS) tarafından katalizlenmektedir. 5-metiltetrahydrofolatın oluşumu; tetrahydrofolattan (THF) elde edilen 5,10-metilentetrahydrofolatın redüksiyonunu katalizleyen 5,10-metilentetrahydrofolat redüktaza (MTHFR) bağımlıdır. MTHFR enzimi ise kofaktör olarak vitamin B<sub>2</sub>'yi (riboflavin) kullanmaktadır. Bu remetilasyon yolunda folat hem koenzim hem de kofaktör olarak kullanılmakta ve bu olay döngü şeklinde devam etmektedir (28, 46, 47). Betaini metil vericisi olarak kullanan ikinci bir homosistein metilaz sistemi memelilerin karaciğeri ve primatların böbreklerinde tespit edilmiştir (48).

Bu yolu katalize eden BHMT, metil vericisi olarak kolinin oksidasyon ürünü olan betaini kullanarak N,N-dimetilglisin ve metiyonin oluşturmaktadır. Folat ve/veya kobalamin eksikliğinde bu yol SAM sentezi için gerekli metiyoninin doku konsantrasyonunu sürdürmektedir (47).

### 1.2.1.3. Transsülfürasyon

Transsülfürasyon homosistein katabolizması için önemli bir yoldur ve karaciğerdeki glutatyonun (GSH) da majör kaynağıdır (49). Homosisteini metiyonin siklusundan alıp geridönüşümsüz olarak önce sistatyonine daha sonra sırasıyla sistein ve glutatyona dönüştüren yolağa transsülfürasyon denir. Bu reaksiyonlar sırasında  $\alpha$ -ketobütirat,  $\text{NH}_4^+$ , taurin, piruvat, sülfat +  $\text{CO}_2$  de oluşur (33).

Transsülfürasyonun ilk basamağında homosistein ve serin amino asidi, Sistatyonin- $\beta$ -sentaz (CBS) enzimi tarafından katalize edilerek sistatyonini oluşturmaktadır. Sistatyonin daha sonra  $\gamma$ -sistatyonaz enzimi ile  $\alpha$ -ketobütirat,  $\text{NH}_4^+$  ve sisteine metabolize edilir. Oluşan sistein, glutatyonun yapısına girmekte ya da sülfata dönüşerek glikozaminoglikanların yapısına katılmaktadır. Diğer yandan, homosistein ile birleşerek sistein-homosistein disülfid bileşiklerini de oluşturabilmektedir (50).

Sistatyonin- $\beta$ -sentaz (CBS) bir heme proteindir. Transsülfürasyonda rol alan her iki enzim de vitamin B<sub>6</sub>'nın aktif formu olan pridoksal-5-fosfatı kofaktör olarak kullanmaktadır (32, 46, 47).

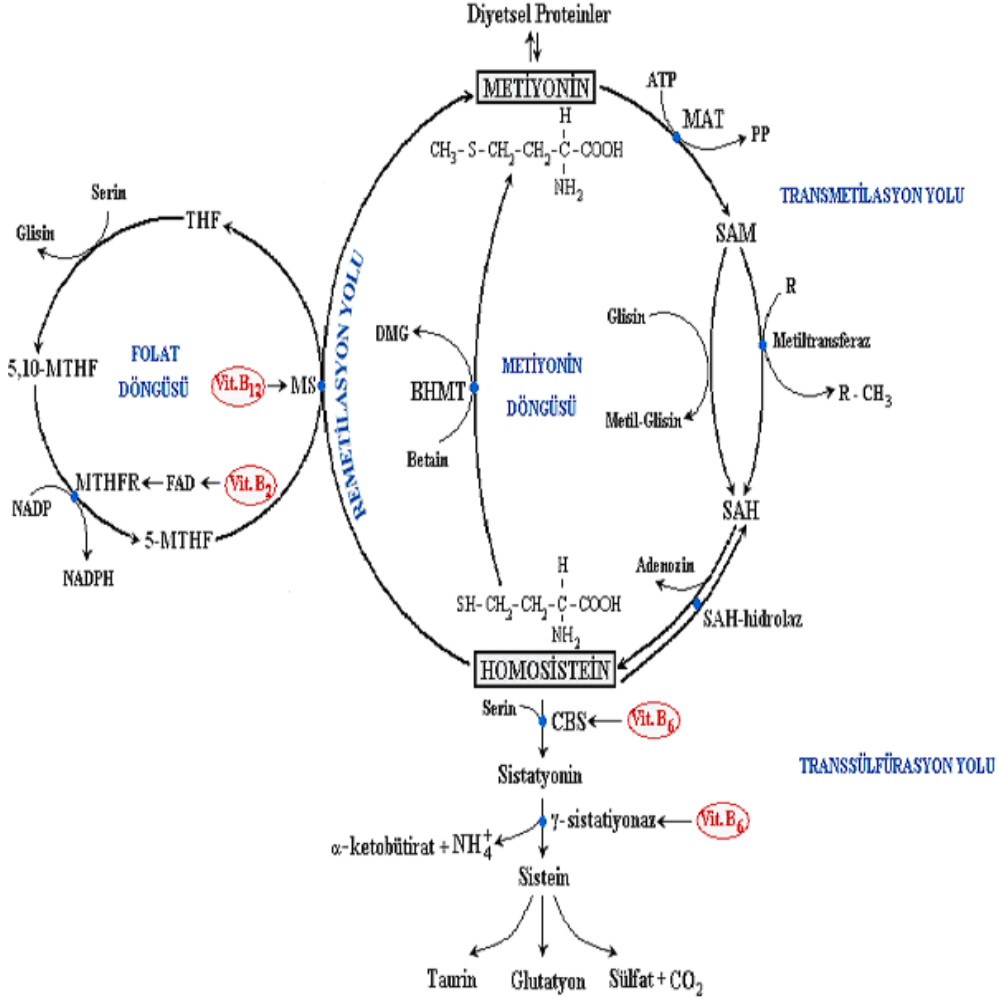
Transsülfürasyon yolu memeli dokularında yaygın olarak bulunmaz; karaciğer, böbrek, barsak ve pankreasta bulunur (40). Homosistein metabolizması Şekil 2'de gösterilmiştir.

### 1.2.2. Homosistein Metabolizmasının Regülasyonu

Homosistein metabolizması esas olarak enzimlerin ekspresyonunda değişiklik ve SAM'ın oluşturduğu allosterik enzim regülasyonu ile olur (40). S-adenozil-L-metiyonin (SAM), CBS enziminin allosterik aktivatörü ve MTHFR enziminin allosterik inhibitörüdür (51). Bu yüzden artmış SAM transsülfürasyonu artırır ve remetilasyonu inhibe eder. Dolayısıyla dokulardaki SAM (bazı dokularda SAH) konsantrasyonları homosisteinin remetilasyon veya transsülfürasyon yönünde ilerleyeceğini belirler (32, 52, 53). Metiyonin adenzil transferaz (MAT) enziminin regülasyonunda endokrin ve nutrisyonel faktörlerin de rolü bildirilmiştir (54).

Transsülfürasyon yolu prooksidan-antioksidan dengesine duyarlıdır. Peroksitler transsülfürasyonu artırır, antioksidanlar azaltır (55). Bir heme proteini olan CBS enzimi okside durumda aktiftir (56, 57). Tersine MS oksidasyonla inaktif hale gelir ve reaktivasyon için metilasyon ile redükte edilmesi gerekmektedir (58). Böylece

oksidatif stres transsülfürasyonu artırabilir; bu da sistein ve glutatyon sentezi ile sonuçlanır (32). Glutatyon sentezi için gerekli olan sisteinin en az yarısı transsülfürasyondan elde edilir (59).



**Şekil 2.** Homosistein Metabolizması

İzotop çalışmalarından elde edilen verilere göre ortamda sistein varsa homosistein transsülfürasyon yolağına değil, transmetilasyon yolağına girer; dolayısıyla sistein, metiyonin-homosistein metabolizmasında düzenleyici etkiye sahiptir (38)).

Uzun süre yüksek metiyonin alımı remetilasyon yolunda inhibisyona neden olur ve transsülfürasyonda satürasyona yol açabilir. Bu durumda homosistein hücrelerden dışarı atılarak plazma homosistein düzeylerinin yükselmesine yol açmaktadır (60).

### 1.2.3. Plazmadaki Homosistein Formları

Plazmadaki homosistein ya plazma proteinlerine bağılı olarak ya da serbest halde bulunmaktadır (61).

İnsan plazması hem indirgenmiş hemde yükseltgenmiş homosistein formlarını içerir. Plazma homosisteinin sadece %1 kadarı indirgenmiş formda bulunmaktadır. Homosistein oksidasyonu disülfid bağı aracılığıyla meydana gelir (62). Yükseltgenmiş homosisteinin % 80- 90 kadarı başlıca albumin olmak üzere plazma proteinlerine bağlanmıştır, serbest homosistein ise ya kendisiyle birleşerek dimer homosistein (homosistin) ya da başta sistein olmak üzere diğer tiyollerle birleşerek sistein-homosistein disülfidi oluşturmaktadır. Total homosistein düzeyi hem bağılı olan kısmı hemde serbest olan kısmı yansıtmaktadır (61). Plazma homosistein formları tablo 2’de gösterilmiştir (62).

**Tablo 2.** Plazmadaki homosistein formları (62).

<b>Redükte (İndirgenmiş) Form</b>		
Homosistein	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ ^-\text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-SH} \end{array}$	%1
<b>Okside (Yükseltgenmiş) Form</b>		
Homosistin	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ ^-\text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ ^-\text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	%5-10
Karışık disülfidler:		
Proteine-bağılı homosistein	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ ^-\text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{PROTEIN} - \text{S} \end{array}$	%80-90
Sistein-homosistein disülfid	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ ^-\text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ ^-\text{OOCCHCH}_2\text{-S} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	%5-10

#### 1.2.4. Hiperhomosisteinemi

Homosistein plazma seviyesinin ölçümü ilk kez 1962 yılında bir tanı aracı olarak homosistinürili hastalar araştırılırken kullanılmaya başlanmıştır (63, 64).

İnsanda plazma total homosistein düzeylerinin 15  $\mu\text{mol/L}$ ' nin üzerinde olması hiperhomosisteinemi (HHcy) olarak kabul edilmektedir. Total plazma homosistein düzeyine göre hafif, orta ve ağır hiperhomosisteinemi olarak değerlendirilmektedir (62).

Konjenital homosistinüride plazma homosistein seviyesi 100  $\mu\text{mol/L}$  civarındadır (65). Sağlıklı erişkinlerde 5-15  $\mu\text{mol/L}$  olarak ölçülmüşse de, bunu normal olarak değerlendirirken dikkatli olunmalıdır; zira 10  $\mu\text{mol/L}$  düzeyinden sonra homosistein ile ilişkili sağlık riskleri artmaktadır. Uygun beslenme ve tedavi ile homosisteinin 10  $\mu\text{mol/L}$  düzeyinde tutulması mümkündür (62, 66). Plazma total homosistein düzeyleri tablo 3'de gösterilmiştir (62).

**Tablo 3.** Plazma total homosistein düzeyleri (62)

---

Normal aralık	5-15 $\mu\text{mol/L}$
<b><u>Hiperhomosisteinemi</u></b>	
Hafif form	15-25 $\mu\text{mol/L}$
Orta form	25-50 $\mu\text{mol/L}$
Ağır form	50-500 $\mu\text{mol/L}$

---

#### 1.2.5. Hiperhomosisteinemi Nedenleri

Plazma homosistein düzeyi demografik, genetik, yaşam stili ve sağlık durumundan etkilenir. Ayrıca birçok ilaç homosistein düzeyini değiştirebilir (62). Plazma homosistein düzeylerini etkileyen faktörler tablo 4'de gösterilmiştir.

#### 1.2.6. Hiperhomosisteinemi Tedavisi

Hiperhomosisteinemi tedavisinde beslenme alışkanlıklarının düzeltilmesi ve homosistein metabolizmasında görevli vitaminlerin yeterli düzeyde alınması

önemlidir. Folat, gerektiğinde vitamin B<sub>12</sub> ve pridoksal fosfat uygulamasıyla hemen her hastada hiperhomosisteinemi seviyesi düşürülebilmektedir.

**Tablo 4.** Plazma homosistein düzeylerini etkileyen faktörler

---

**Demografik**

Yaş

Cinsiyet

Etnik köken

**Genetik**

CBS eksikliği yada defekti

MTHFR eksikliği yada defekti

MS eksikliği yada defekti

**Edinsel**

B vitamin eksikliği (folat, vit. B<sub>12</sub> ve B<sub>6</sub>)

Sağlık durumu

- Renal fonksiyon bozukluğu
- Son dönem böbrek hastalığı
- Hipertansiyon, hiperlipidemi
- Çeşitli kanserler
- Kalp ve diğer organ transplantasyonları
- Kronik karaciğer hastalıkları
- Hipotroidizm

İlaçlar

**Yaşam biçimi**

Beslenme alışkanlığı

Sigara içimi

Alkol ( MS aktivitesini bozar)

Kahve ( günde 5 fincandan fazla)

Egzersiz azlığı

---

### 1.2.7. Hiperhomosisteineminin Patojenik Mekanizmaları

Çeşitli patofizyolojik mekanizmalar yüksek plazma homosistein düzeyleri ile ateroskleroz ve tromboz riskinin artması arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışmaktadır. Homosisteinin ateroskleroz ve trombozu hangi mekanizmalar ile meydana getirdiği kesin olarak bilinmemektedir (43). Endotel hücre hasarı, endotelial fonksiyon bozukluğu, vasküler düz kas hücre çoğalması, platelet adezyonunun artması, LDL oksidasyonunun artması ve arteriyal duvarda birikmesi ve koagülasyon kaskadının aktivasyonu, yükselen homosistein düzeylerinin aterotrombojenitesini açıklayabilmek için tanımlanan muhtemel mekanizmalardır. İn vivo ve in vitro ortamda yapılan çeşitli çalışmalarda, yüksek homosistein düzeyinin endotel hücrelere zarar verdiği, platelet adezyonuna, aktivasyonuna uygun duruma getirdiği ve sonuçta tromboz oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (82). Homosistein ile indüklenen endotelial hasarın subendotelial matriksi açığa çıkardığını ve bunun da platelet akümülyasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (12). Homosisteinin köpek maymunlarına (baboon) infüzyonu sonucunda ateroma oluştuğu, insan aterosklerotik lezyonlarında bulunan değişikliklere benzer intimal hücresel proliferasyon meydana geldiği bildirilmiştir (21). Primatlarda diyet ile indüklenen hiperhomosisteineminin in vivo'da hasarlı vazomotor regülasyona ve ex vivo 'da hasarlı endotelial antitrombotik fonksiyona neden olduğu da gösterilmiştir (37).

Hiperhomosisteinemi sonucu meydana gelen endotel disfonksiyonunun moleküler mekanizması kesin olarak açıklanamamasına karşı, homosisteinin çeşitli düzeylerde endotelial hasara neden olduğu bilinmektedir (38). Hiperhomosisteineminin endotelial disfonksiyonunu oksidatif hasarı artırarak meydana getirdiği düşünülmektedir (38). Homosistein plazmaya eklendiği zaman hemen okside olarak, homosistin, homosistin-karışık disülfidler ve homosistein tiolakton oluşur. Sulfidril grubunun oksidasyonu sırasında superoksit radikali ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur. Bu moleküllerin homosistein tarafından meydana getirilen endotelial sitotoksiteden sorumlu olduklarına inanılmaktadır. Homosistein oksidasyonu sırasında oluşan  $O_2^-$  ve hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ) lipit peroksidasyonunu başlatır, bu etki endotel hücre yüzeyinde olduğu kadar plazmada lipoprotein partiküllerinin içinde de meydana gelir. In vitro ortamda, homosistein ile indüklenen endotel hücre hasarının büyük oranda  $H_2O_2$  oluşumuna bağlı olarak meydana geldiği

düşünölmüş, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in matriks ve düz kas hücrelerini açığa çıkardığını ve bunun da platelet ve lökosit aktivasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (38). Ancak oksidatif stres hipotezi, plazmadaki konsantrasyonu total homosisteinden 20-30 kat daha yüksek olan, hızlı bir şekilde okside olabilen sistenin neden kardiovasküler hastalıklar için bir risk teşkil etmediğini açıklayamamıştır (24). Homosistein tiyolaktan gibi homosistein metabolizması sırasında oluşan yan ürünlerin, LDL'nin apo B'de bulunan amino gruplarının tiyollenmesine neden oldukları, meydana gelen LDL agregatlarının makrofajlar tarafından alınarak, erken aterosklerotik plaklarda köpük hücrelerin içine katıldıkları, daha sonra, homosistein tiyolaktanın damar duvarında proteinleri açıldığı ve oksidasyonu arttırdığı, vasküler düz kas hücrelerinde DNA sentezini ve proliferasyonu arttırdığı, endotel hücrelerinde DNA sentezini inhibe ettiği, ve böylece aterosklerotik plakların gelişimini hızlandırdığı bildirilmiştir (42, 89). Metiyonin metabolizması sırasında yan ürün olarak homosisteinin transsülfürasyon ve transmetilasyon reaksiyonları ile metabolize olmadığı takdirde, proteinlere dolaylı olarak, metiyonil-tRNA sentetazın aracılık ettiği ve homosistein tiyolaktanın oluşumunu içeren bir mekanizma ile, inkorpore olmasıyla hücrelerde toksik etki gösterebileceği bildirilmiştir. Homosistein tiyolaktan yüksek enerjili tiyoester bağı içermesinden dolayı kimyasal olarak reaktiftir ve kolaylıkla asparaginin, glutaminin ve özellikle de lizinin yan zincir gruplarını asetiller ve bu reaksiyon protein homosisteinilasyonuna neden olur. Protein homosisteinilasyonunun proteinlerde hasara yol açtığı bildirilmiştir, bunun da homosistein ile indüklenmiş vasküler hasarda rol oynayabileceği hipotezi öne sürölmüştür (51). In vitro ortamda da, yakın zamanda yapılan çalışmalarda, proteinlerin yapısına girmediği düşünölen homosisteinin, dolaylı bir mekanizma ile proteinlerin yapısına girdiği ve peptid veya amid bağlarıyla bağlanan homosisteinin (Hcy-N-protein), insan hemoglobin, serum albumin ve  $\gamma$ -globulin proteinlerinde bulunduğu bildirilmiştir. Hcy-N-proteinin homosistein metabolizmasının önemli bir bileşeni olduğu ve muhtemelen homosisteinin hücreler üzerindeki zararlı etkilerine iştirak edebileceği bildirilmiştir (25).

In vitro çalışmalardan elde edilen veriler, homosisteinin endotel hücrelerine hasar veren direkt sitotoksik etkisinin yanında, endotelyumun antitrombotik özelliklerini değıştirdiğini öne sürmektedir (67). Endotelial hasar sonucu damar

duvarına platelet adezyonunun arttığı, serbest oksijen radikallerinin meydana geldiği, prostosiklin üretiminin baskılandığı ve protrombin aktivasyonunun arttığı bildirilmiştir (68). Homosisteinin, insan aortik endotel hücrelerinde, VCAM-1'in ekspresyonunu arttırarak monosit adezyonunu stimüle ettiği bildirilmiştir (69). Homosisteinin, monositlerde doku faktörü ekspresyonunu baskılayarak (70), endotel hücrelerinde doku faktörü ekspresyonunu arttırarak (71) ve faktör V'in faktör Va'ya aktivasyonunu arttırarak koagülasyon kaskadını başlattığı ve trombin oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir. Homosisteinin, endotel hücrelerinin platelet agregasyonunu inhibe edici etkisini, muhtemelen, nitrik oksitin biyolojik yararlığını baskılayarak meydana getirdiği bildirilmiştir (72). Diğer yandan, yüksek düzeyde homosisteinin, protein C aktivasyonunu baskılayarak antikoagulant aktivitesini inhibe ettiği (73), antikoagülant heparan sülfatın ekspresyonunu inhibe ederek antitrombin III'ün endotelyal yüzeye bağlanmasını baskıladığı bildirilmiştir (74). Fibrinolitik süreçte, homosisteinin, t-PA'nın endotelyal yüzeye bağlanmasını ve etkisini baskılayarak, endotelyal bağımlı fibrinolizi inhibe ettiği gösterilmiştir (75).

### **1.3. Adezyon Molekülleri**

Adezyon molekülleri, hücre yüzeyinde yapısal olarak var olan yada bazı uyarılarla (çeşitli kimyasal mediyatörler) hücre yüzeyinde beliren ve hücrelerin birbirine ve ekstraselüler matrikse bağlanmasını sağlayan ve yaşamın yapıstırıcısı olarak tanımlanan moleküllerdir (76). Bu etkileşim sayesinde, hücrelerin birbirleriyle ve çevreleriyle olan ilişkileri sağlanır. Hücrelerin özgün olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi hücre farklılaşması ve patolojik hallerde; inflamasyon, kanser metastazı, tümör invazyonu gibi olguların düzenlenmesinde de görev alırlar (77, 78). Endotel ve lökosit arasındaki ilişkide rol oynayan adezyon molekülleri dört sınıfta incelenmektedirler. İntegrinler, Selektinler, İmmünglobulin Süper Ailesine dahil adezyon molekülleri ve Kaderinler. Ayrıca fonksiyonel olarak adezyon görevi gören ama yukarıdaki gruplar içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleri de vardır (79).

#### **1.3.1. İntegrinler**

İntegrinler; selektin/ligand ilişkisi sonrası lökositlerin yavaşlayıp endotel hücresi üzerinde yuvarlanmasını takiben lökositlerle endotel hücre yüzeyi arasındaki kuvvetli adezyonunda rol oynayan önemli adezyon molekülleridir (80).

### **1.3.2. Kaderinler**

Kaderinler, yan yana hücreler arasındaki moleküler bağlantıyı sağlayan yapı ve fonksiyonları açısından kalsiyuma bağımlı olan transmembran proteinlerdir. Kaderinler embriyoda morfogenezden, erişkin organizmada seçici hücre tanınmasından ve yaşam boyu normal doku mimarisinden sorumlu hücre yüzey glikoproteinleridir (81, 82).

### **1.3.3. Sınıflandırılmayan Adezyon Molekülleri**

Adezyon fonksiyonuna katılan, ancak bu dört grup içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleridir. Bunlar; CD44 (Hermes), CD36, Laminin, Fibronektin, OX40 olarak sıralanabilir (79).

### **1.3.4. İmmünglobulin Süper Ailesi**

Yapısal olarak Ig lere benzediği için bu adı almıştır. Yapısal olarak bir transmembran kısmı ve stoplazmik kuyruktan meydana gelirler. Bu aile molekül çeşitliliği bakımından oldukça zengindir. Ailenin her üyesi, değişik miktarlarda Ig benzeri domain içerirler. Antijen tanıma ve hücre adezyonunda önemli rolleri vardır (83).

**ICAM-1 (CD54)** ; Endotel hücresi, lenfositler, monositler, düz kas hücreleri ve makrofajlarda eksprese edilen Ig süper ailesinin bir üyesidir (84). Beş Ig benzeri domain içerir. Bu domainlerden ilk ikisi LFA-1 (Leukocyte Function Associated antigen) için bağlanma bölgesidir. Üçüncü domain ise; Mac-1 (Macrophage Antigen-1)'in bağlanma bölgesini oluşturur (85). Endotel hücrelerinde, ICAM-1 yapısal olarak az miktarlarda eksprese edilmektedir. IL-1 (İnterlökin-1), TNF- $\alpha$  (Tümör Nekroz Faktör), IFN- $\gamma$  (İnterferon), LPS (Lipopolisakkarit) gibi mediyatörlerle endotel hücrelerinin uyarılması sonucu ICAM-1 ekspresyonu artmaktadır (86). Bu artış akut ve kronik inflamasyon alanlarında ve tümoral hücrelerde daha çok belirgindir (76). Uyarı sonucu, ICAM-1'in hücre yüzeyinde belirmesi, 2-4 saatte başlar ve 12-16 saat süreyle plato çizer. Ortamda sitokin varlığında ise, 24-72 saat kadar devam eder. ICAM-1 molekülleri eozinofiller, T lenfositler ve nötrofillerin göçünde önemlidir (87). ICAM-1'in fonksiyonu; antijen sunan hücreler ve T hücreleri arasındaki ilişkilerde önemli bir sinyal mekanizmasını oluşturmaktadır. Bu nedenle ICAM-1'in karşıt ligandı LFA-1 ile ilişkisi çok sayıda inflamatuvar hastalıklarda önemlidir (88). Extraselüler

kısının proteolitik ayrılması ile solubl (sICAM-1) formu oluşur. Bunun plazma düzeyleri hastalıklarda inflamasyonun önemiyle paralellik gösterir (76).

**ICAM-2 (CD102):** Endotel hücrelerinde, monositlerde ve lenfositlerde eksprese olur. Fakat proinflamatuvar sitokinler ekspresyonunu etkilemez (76). ICAM-1 den farklı olarak iki Ig benzeri domain içerir. Mac-1 bağlanma bölgesi o domaini olmadığından bulunmamaktadır (85).

**ICAM-3 (CD50):** Endotel hücrelerinde bulunmaz. Yalnızca lökositlerde bulunur ve T-lenfositlerin adezyonunda rol alır (76). ICAM-1 'e yapısal olarak çok benzer. Tek farkı üçüncü Ig domainine Mac-1 bağlanmaz (85).

**ICAM-4:** Eritrositlere özgüdür.

**ICAM-5:** Beyne özgüdür (89).

**VCAM-1 (CD106):** Ig süper ailesinin bir diğer üyesidir ve endotel hücresi, kemik iliği stromal hücreler, embriyonik doku ve sinovyal dokuda eksprese olur (90). Uyarılmamış endotelde yapısal olarak bulunmaz. IL-1, IL-4 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin uyarısıyla 2-4 saat sonra hücre yüzeyinde belirir. IL-4 seçici olarak VCAM-1'in belirmesine sebep olur ve VLA-4 (Very Late Antigen) aracılığıyla eozinofillerin ortamda birikmesini sağlar (91). VCAM molekülleri, damar endotelial duvarında lökositlerin göçü ve adezyonunu sağlarlar (92). ICAM-1 ve VCAM-1'in her ikisi de immun yanıt ve iltihap durumlarında hayati rol oynarlar. VCAM-1 birçok hücre tipi tarafından eksprese edilebilen Ig benzeri bir transmembran proteindir. VCAM 1'in bağlandığı karşı ligandı VLA-4 tür ve nötrofiller hariç tüm lökositlerde bulunurlar. VCAM-1 / VLA-4 yolu, çeşitli allerjik ve iltihap hastalıklarına ilaveten otoimmün hastalıkların patojenik işlemlerinde de anahtar rolü oynamaktadır (91). VCAM-1; yapısı altı ve yedi domainli olmak üzere iki formda bulunur. Bu iki form da, yapı olarak birbirine benzer özelliktedir. Ancak tek farkları altı domainli formunda dördüncü Ig domainin olmamasıdır. Bu durumda altı domainli formunda tek ligand bağlanma bölgesi 1.Ig domainidir (85).

**NCAM: (CD56) (Nöronal hücre adezyon molekülü):** Nöral hücreler, astrosit ve myoblastta eksprese olur. Embiyogenezde normal doku mimarisinin gelişimi ve hücre büyümesi sırasında izlenen kontak inhibisyona katılırlar.

**PECAM-1: (CD31) (Trombosit- Endotel Hücre Adezyon molekülü)**

Lökosit, monosit, trombosit, nötrofil ve endotel hücresi üzerinde ekspresse olur. İnflamasyon, integrin aktivasyonu, hücre – hücre adezyonuna aracılık ederler (90).

**L1CAM:** Bağırsak ve ürogenital bölge epitelyum hücrelerinde görülmesine rağmen en yoğun ekspresse edildiği yer merkezi ve periferik sinir sistemidir (93). Miyelinizasyonun erken basamaklarında ve aksonların büyümesinde etkilidir (94).

**JAM (Junctional Adhesion Molecule):** Endotelyal hücrelerde, hücreler arası kavşakta yapısal olarak bulunan bir moleküldür. Monosit transmigasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (90).

**CD2 (LFA-2):** T-hücresi üzerinde ekspresse olurlar. LFA-3'e bağlanarak T hücresinin hedef hücreye adezyonu, T-hücre aktivasyonuna katılırlar (90).

**LFA-3 (CD58):** Lökosit, eritrosit, endotel ve epitelyal hücreler, fibroblast üzerinde ekspresse olurlar. CD2'ye bağlanarak, T-hücrenin hedef hücre ve antijen sunan hücreler ile ilişkisine, eritrositler ile adezyonuna aracılık ederler (90).

**MadCAM-1 (Mucosal addressin cell Adhesion Molecules):** Mukozal endotelin üzerinde ekspresse edilir. Normal mukozal dokuya lenfositlerin selektif olarak yerleşmesini sağlar (76).

**1.3.5. Selektinler**

Molekülün N terminalinde lektin benzeri bir yapı olduğu için bu gruba selektinler denilmektedir. Endotel hücresi ve lökositlerin yüzeyinde bulunurlar (95). Hücre dışı bölümde Ca bağımlı lektin kısmı, bunun yanında EGF-benzeri (Epidermal Growth Factor benzeri) domaini, yanındada selektin türüne göre 2-9 arasında değişen CRP (Compleman regulator protein) domaini vardır. Bunları membranı geçen kısım ve stoplazmik kısım izler. Lektin kısmı liganda bağlanan bölümdür (96). Lökositlerin endotel hücresine adezyonunu ilk başlatan moleküller selektinlerdir. İnflamasyon bölgesinde lökositlerin damar endoteline yapışma ve geçiş öncesinde yavaşlayıp, yuvarlanma hareketi yapmalarında görevli moleküllerdir (97). Selektinler buldukları dokulara göre isim alan üç alt grupta incelenir (98).

**E-Selektin:** (Endotelyal Lökosit Adezyon Molekülü): Uyarılmamış endotel hücresi üzerinde bulunmaz ama ekspresyonları IL-1, TNF-alfa gibi inflamatuvar uyaranlara veya endotoksinlere (LPS gibi) cevaben artar (76). Uyarı ile endotel

hücresinde 30 dakika içinde belirmeye başlar ve 2-4 saatte zirveye ulaşırlar. E-selektinin yapısal olarak birinci ekstraselüler domaini lektin içerirken ; ikinci domaini de EGF-benzeri domaine sahiptir. Ayrıca 6 tanede CRP domaini bulunmaktadır (85). E-selektine karşı direkt etkili olan antikorların inflamasyonu önlediği ve böylece E-selektinin inflamasyonda rol oynayan bir adezyon molekülü olduğu gösterilmiştir (99). E-selektin reseptörü nötrofil, monosit ve eozinofillerin seçici olarak endotele bağlanmasını sağlar (97).

**L-Selektin: (Lökosit adezyon molekülü):** Periferik lenf bezlerindeki lenfositlerin adezyonunda rol oynarlar. İmmün cevabın oluşmasında düzenleyici rolü vardır (100). Son zamanlarda L-selektinin inflamasyonun ilk basamağı olan toplanma safhasında nötrofillerin vasküler duvara hareketinde rolü olduğu ortaya konulmuştur (101).

**P-Selektin:** Hem plateletlerin alfa granüllerinde hemde endotel hücrelerin Weibel-palade cisimciklerinde bulunurlar. Endotelde histamin, bradikinin veya IL-1, TNF-alfa gibi sitokinler gibi uyarıların etkisiyle hemen hızla hücre yüzeyine doğru yer değiştirir. İnflamasyon olayında ortaya çıkan ilk selektin molekülüdür (76).

## **1.4. Melatonin**

### **1.4.1. Melatonin sentezi ve salgılanması**

Melatonin pineal bezde bir amino asit olan triptofan'dan sentezlenir. Melatonin etkilerini vücutta başlıca beyin olmak üzere çoğunlukla periferik dokularda bulunan özel reseptörler aracılığıyla gösterir. Melatoninin; hücreleri, dokuları ve organları oksidatif zedelenmeye karşı koruduğu gösterilmiştir (102, 103). Melatonin çok güçlü bir antioksidandır. Özellikle en zararlı serbest radikal olan "hidroksil radikali" ile reaksiyona girerek onu indolil katyonuna dönüştürmek suretiyle ortadan kaldırır (104).

İlk kez 1958 yılında Lerner ve ark. (105), pineal bezden salgılanan ve kurbağalardaki melanofer hücrelerini etkilediği için 'melatonin' adı verilen bir hormonun varlığını ileri sürmüşlerdir. Melatonin temel fizyolojik fonksiyonları; uyku davranış ve sirkadiyen ritimlerin düzenlenmesi ile immün sistem ile ilişkili etkileridir (106, 107). Nörotropik bir özelliğe sahip olduğu ve bu nedenle de bellek fonksiyonu ile de ilişkili olduğu iddia edilmektedir (108).

Melatonin pineal bezde salgılanan bir nörohormondur. Sekresyonu gece en yüksek olmak üzere ritmik bir özellik gösterir (109). Vücutta endojen melatoninin çoğunluğu pineal bezde sentezlenmektedir. Son yıllarda diffüz nöroendokrin sisteme ait endokrin hücrelerde de az miktarda da melatonin sentezlendiği bildirilmiştir. Aynı şekilde hemotopoietik sisteme ait kemik iliği hücrelerinin de önemli bir melatonin sentez yeri olduğu gösterilmiştir (110). Melatonin sentezinde pineal bez ve retinada bulunan iki enzim rol oynamaktadır. NAT (N-asetil transferaz) enzimi ile hidrokşi indol-0-metil transferaz (HIOMT) enzimi. Bu enzimlerin salınımı gündüz ışıktaki azalmasına karşın gece karanlıkta 100 kata ulaşan bir artma göstermektedir (111, 112). Gündüz pineal bez ve presinaptik terminallerde serotonin miktarı maksimum düzeyde olup sürekli bir şekilde depolanmaktadır (113). Gece ise suprakozmatik nükleustan gelen uyarı sonucu postsinoptik aralıkta norepinefrin salınımı maksimum düzeyde olmaktadır. Norepinefrin'in %85'i postsinoptik pinealosit membranında bulunan beta adrenerjik reseptörlerine ve geri kalan %15'i ise alfa adrenerjik reseptörlerine bağlanmaktadır (114, 115). Norepinefrinin hücre membranına bağlanması sonucu adenilat siklaz enzimi aktive olmakta ve oluşan cAMP ile melatonin sentezinde rol oynayan NAT enzimi aktifleşmektedir (111). Bu da melatonin sentezinde önemli ölçüde bir artışa neden olur. Eğer hem alfa hem beta adrenerjik membran reseptörleri stimule olur ise cAMP miktarı ve melatonin sentezinde artış olmaktadır (116,117). Pinealositlerde üretilen melatonin çok hızlı bir şekilde bu hücrelerin komşuluğunda yer alan kapillerlere bırakılmak suretiyle sistemik kan dolaşımına karışmaktadır (118). Lipofilik özelliği nedeniyle vücuttaki tüm doku ve sıvılara kolayca dağılmaktadır. Pineal kan-beyin bariyeri olmadığı için salgılanan melatonin direkt olarak sistemik kan dolaşımı ve serebrosipinal sıvı içine karışmaktadır (119, 120). Melatonin sentezinin son basamağı N-asetilserotanın metilazlarıdır ve bu mekanizma homosistein-metiyonin gibi sülfür içeren aminositlerin metabolizması sırasında oluşan metil verici S-adenosil metiyoninin gerektirir. Homosisteininde metiyonine remetilasyonu için folat gerekmektedir. Metiyonin sekresyonunun folat yetersizliğinden etkilendiği ileri sürülmüştür (121).

#### **1.4.2. Melatoninin etkileri**

Melatonin glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve süperoksid dismutaz gibi antioksidan enzimleri stimule ettiği, nitrik oksit sentetaz gibi oksidatif

enzimlerin sentezinde ise inhibitör etki yaptığı belirlenmiştir (122, 123). Melatonin antioksidan özelliğini hücrenin enerji merkezi olan mitokondirilerin üzerinde de göstermektedir. Melatonin hücrenin mitokondirisine nüfuz edip mitokondirileri oksidasyon zehirlenmesinden koruyabilmektedir. Melatonin OH ile reaksiyona girerek toksik etkisi çok düşük olan indolil radikaline dönüşür. Melatonin ile diğer indollerin antioksidan özellikleri karşılaştırıldığında melatoninin bu moleküllerin antioksidan özelliklerinden belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Melatonin mannitol ve glutatyon gibi diğer OH radikali temizleyicileri ile karşılaştırıldığında antioksidan etkisi glutatyondan beş kat, mannitolden onbeş kat daha güçlü olduğu belirtilmiştir (122, 123).

Safrol adı verilen maddenin karaciğer üzerindeki etkisinin melatonin verilerek önlenmesi mümkün olmuştur (124). Gece uygulanan safrolün toksik etkisinin gündüz verilen safrole göre daha az olduğu saptanmıştır (125). Pinealektomi uygulanmış ratlarda ise melatonin düşmesi ve gündüz-gece salınım ritminin bozulması nedeniyle safrolün neden olduğu hasarda artış gözlenmiştir (124).

Melatonin güçlü bir antioksidandır. Melatonin glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GSSG-Rd), süperoksit dismutaz ve katalaz gibi enzimlerin uyarıcısıdır (109). Ayrıca hidroksil radikali (OH), simple oksijen, peroksitnitrit anyonu (ONOO-) ve peroksil radikali gibi (LOO-) oksijen ve nitrojen kökenli reaktifleri inhibe edici özelliği vardır (126, 127).

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Deney Hayvanları

Deneysel hayvanlar olarak kullanılan Wistar-albino cinsi ratlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM) temin edildi ve deneysel çalışmalar FÜDAM'da gerçekleştirildi. Ratlar; havalandırma sistemi bulunan, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış, sıcaklığı 22- 25 °C arasında sabit tutulan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen standart plastik kafeslerde beslendi. Yemler, özel çelik kaplarda ve su da paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan 8 mm'lik pelletler halindeki rat yemleriyle beslendi. Ratların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi. Ratlara verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 5'de gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi

<b>Yem Bileşimi</b>	
Su (en çok)	% 12
Ham protein (en az)	% 24
Ham selüloz (en çok)	% 7
Ham kül (en çok)	% 8
HCl'de çözünmeyen kül (en çok)	% 2
NaCl (en çok)	% 1
Mineral Karması *	% 1.25
Vitamin Karması **	%1.25
Metabolik enerji	2650 kcal/kg

\* Mineral Karması: Kalsiyum (% 1.0-2.8), Fosfor (% 0.9), Sodyum (%0.5-0.7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

\*\* Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit. D<sub>3</sub> (1000 IU/kg), Vit. E (60 mg/kg), Vit. B<sub>2</sub> (4 mg/kg).

### 2.2. Deneysel Uygulamalar

Deney hayvanlarının seçimi ve yapılan uygulamalar sırasında F.Ü. Tıp Fakültesi Etik Kurulu (25.01.2008 / Toplantı: 01 ; Karar No: 14 ) onayı alınarak; çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı.

Deneysel çalışmalarda, ortalama ağırlıkları 220 (220 ± 30) gr olan 30 adet Wistar albino cinsi erkek ratlar kullanıldı. Ratlar rastgele aşağıdaki şekilde gruplandırıldı:

**1. Kontrol Grubu (grup I)** (n=10): Normal içme suyu ve bazal diyetle beslenen grup.

**2. Homosistein (Hcy) grubu (grup II)** (n=10): Ratlarda 6 hafta boyunca 1,5 gr/kg/gün dozunda metiyonin (Merck, katalog no: 500986) içme sularına katılarak hiperhomosisteinemi oluşturulan ve bazal diyetle beslenen grup.

**3. Homosistein (Hcy) + Melatonin (Mel) grubu (grupIII)** (n=10): İkinci grupta olduğu gibi hiperhomosisteinemi oluşturulan, ilave olarak 10 mg/kg/gün dozunda melatonin (Sigma) i.p. verilen ve bazal diyetle beslenen grup.

Bu çalışmada oral uygulanan metiyonin dozunun plazma homosistein düzeyini kontrole göre yaklaşık 3 ve 6 kat arttırdığı yayınlanan çalışmalarda gösterilmiştir (128). Bu kronik hiperhomosisteinemi oluşturmak için yeterli bir dozdur. Metiyonindeki sülfür grubunun özelliğinden dolayı ratlar ilk gün kontrole göre daha az su tükettiler ama sonraki günler kontrol grubuyla eşit miktarda su içtiler.

Deneysel uygulamalar sonrasında etik kurulun aldığı kararlara uygun olarak dekapite edilen ratların kan ve aorta örnekleri alındı.

### **2.2.1. Serum Homosistein Düzeylerinin Ölçülmesi**

Tüm gruplardaki ratların kanları alındı ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek (Heraeus Biofuge Stratos; Kendo Laboratory Products, Osterode-Germany) serumları ayrıldı. Ratların serum total homosistein düzeyleri ELİSA (Enzyme linked-immunosorbent assay) yöntemiyle ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi L-homosistein, enzimatik olarak S-adenozil-L-homosisteine dönüşümü sonucu oluşan anti-SAH antikollarının ölçümüne dayanmaktadır. Ölçümler ELX 800 (USA) cihazında yapılmış olup sonuçlar µmol/L olarak verilmiştir. Çalışmada Axis (Axis-Shield AS, Oslo, Norway) marka kitler kullanılmıştır.

### **2.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem**

Aorta örnekleri Fırat Üniversitesi Patoloji Anabilimdalı laboratuvarında VCAM-1 ekspresyonunu immunohistokimyasal yöntem ile belirlemek için formalin ile fikse parafine gömülü dokulardan Poly-L- Lysine ile kaplı lamlara minör modifikasyonlar

(Lab Vision Corporation, USA ) ile avidin-biyotin-peroksidaz kompleks (ABC) tekniği kullanılarak 5 µm kalınlıkta kesitler alındı. Tüm kesitler deparafinize edilmek üzere 15 dakika etüvde 56°C'de bekletildi. 20 dakika içinde 5 ksilenden geçirilmek suretiyle devam eden deparafinizasyondan sonra yine 20 dakika içinde inen alkol serilerinden (%96, %90, %80, %70) geçirilip rehidrate edildi. Distile suda 5 dakika yıkandı. Endojen peroksidaz aktivite % 3' lük Hidrojen Peroksit( H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ) ile 10 dakika bloke edildi. ABC üretim protokolüne uygun olarak hazırlandı. Doku kesitleri mikro dalga fırında Citrate Buffer ( ph:6) içerisinde 800 W 5+5 dakika ve 640 W 5 dakika uygulama yapıldı. Mikrodalgadan sonra 20 dakika oda ısısında bekletildi. Sonra 0,01 M Fosfat Buffered Saline (PBS) (Ph:7,4) ile yıkandı. Kesitlerin etrafı kurularak cam kalemi ile çizildi. Nonspesifik antikor bağlanmasını önlemek için 10 dakika bloke edici ajan Ultra V Blok inkübe edildi. Ardından kesitlere goat anti rat VCAM poliklonal antikor (1/100 dilüe) (Santa Cruz Biotechnology, Inc, USA) primer antikor 38 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından PBS 'de yıkanarak biotinylated Goat Antiserum (Lab Vision Corporation) ile 38°C'de 10 dakika inkübe edildi. Tekrar PBS'de yıkandıktan sonra Streptavidin- Biyotin-Peroksidaz kompleks her kesite 10 dakika süre ile inkübe edildi. Kesitler iki defa 5 dakika süre ile PBS 'de yıkandı. Kromogen olarak Aminoetil Karbazol (AEC ) damlatılarak 10 dakika süre renk alınca kadar inkübasyona bırakıldı. Tüm kesitler çeşme suyunda yıkanarak zıt boyama sağlamak için Mayer Hematoksilende 1-2 dakika bekletildi. 5 dakika çeşme suyunda yıkandıktan sonra dokulara zarar verilmeden kenarları silindi. Kesitler Ultramount ile kapatıldı. Işık mikroskopu altında değerlendirildi. Kesitlerdeki VCAM ekspresyonunu immunohistokimyasal boyanması semikantitatif bir yöntem ile değerlendirildi. Tüm grup dokularının değerlendirilmesinde torasik aorta endoteli göz önüne alındı. VCAM ekspresyonu aorta endotel hücrelerinde immun boyanma yoğunluğu açısından;

0: boyanma yok

+: hafif

++: orta

+++ : şiddetli boyanma olarak değerlendirilmiştir.

### **2.3. İstatistiksel Analizler**

Elde edilen veriler SPSS-12 bilgisayar paket programına yüklendi. Gruplar arasındaki farklılıklar One Way ANOVA analizi kullanılarak hesaplandı. Post-Hoc hesaplaması için de Bonferroni' nin t-istatistik analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık  $P < 0.05$  olarak kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Ratlara Metiyonin Verilmesinin Serum Homosistein Düzeyine Etkisi

Kontrol grubundaki ratların serum total homosistein düzeyi ortalaması  $3,07 \pm 0,09 \mu\text{mol/L}$ , metiyonin ile beslenen ratların serum total homosistein düzeyleri ortalaması  $11,00 \pm 0,51 \mu\text{mol/L}$ , metiyonin ile beslenen ratlara melatonin uygulanmasıyla serum total homosistein düzeyleri ortalaması  $4,01 \pm 0,24 \mu\text{mol/L}$  olarak bulundu (Tablo 6.).

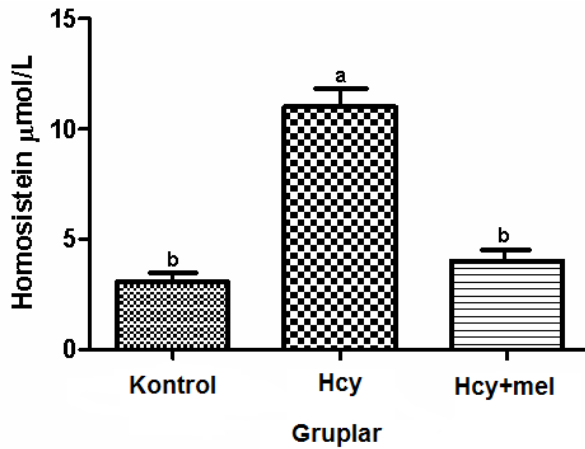
Homosistein düzeyleri kontrole göre metiyonin uygulanan ratlarda istatistiksel olarak oldukça önemli düzeyde artmıştır ( $P < 0.0001$ ). Homosistein + Melatonin grubu ratlarda serum total homosistein düzeyleri Homosistein grubu ratlara göre istatistiksel olarak oldukça önemli düzeyde azalmıştır ( $P < 0.0001$ ). Kontrol grubu ratların serum total homosistein düzeyleri ile Homosistein + Melatonin grubu ratların serum total homosistein düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $P > 0.05$ ).

**Tablo 6.** Total serum homosistein düzeyleri

Serum Total Homosistein Düzeyi ( $\mu\text{mol/L}$ )	Gruplar		
	K	Hcy	Hcy+Mel
	$3,07 \pm 0,09^b$	$11,00 \pm 0,51^a$	$4,01 \pm 0,24^b$

Aynı satırda farklı harfler taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P < 0.0001$ ).

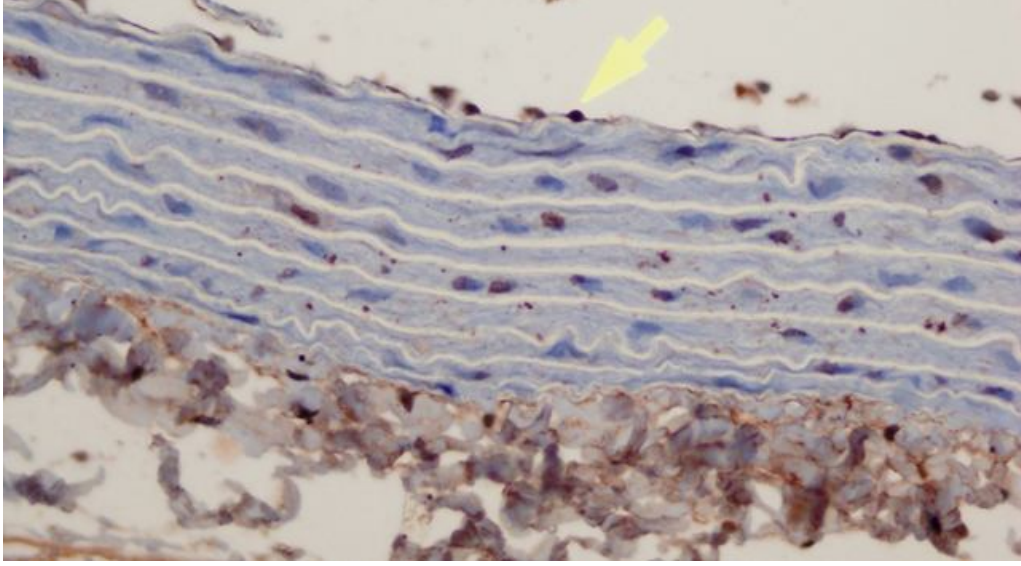
K: kontrol grubu, Hcy: Homosistein grubu, Hcy+Mel: Homosistein + Melatonin grubu



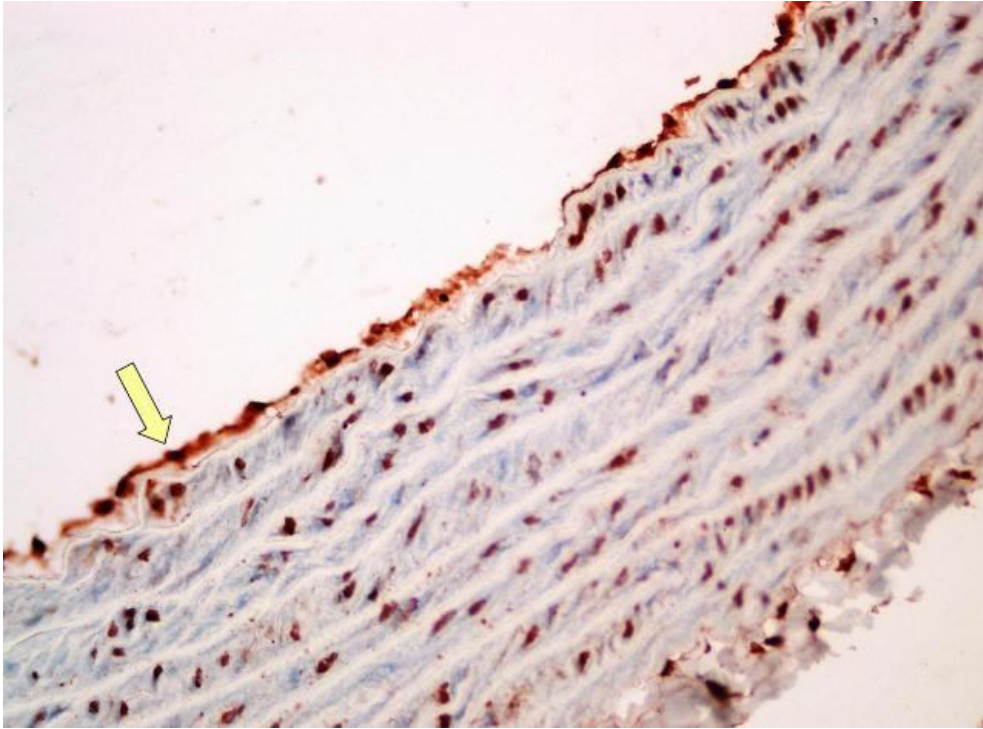
**Şekil 3.** Homosistein düzeyleri

### 3.2. İmmunohistokimya

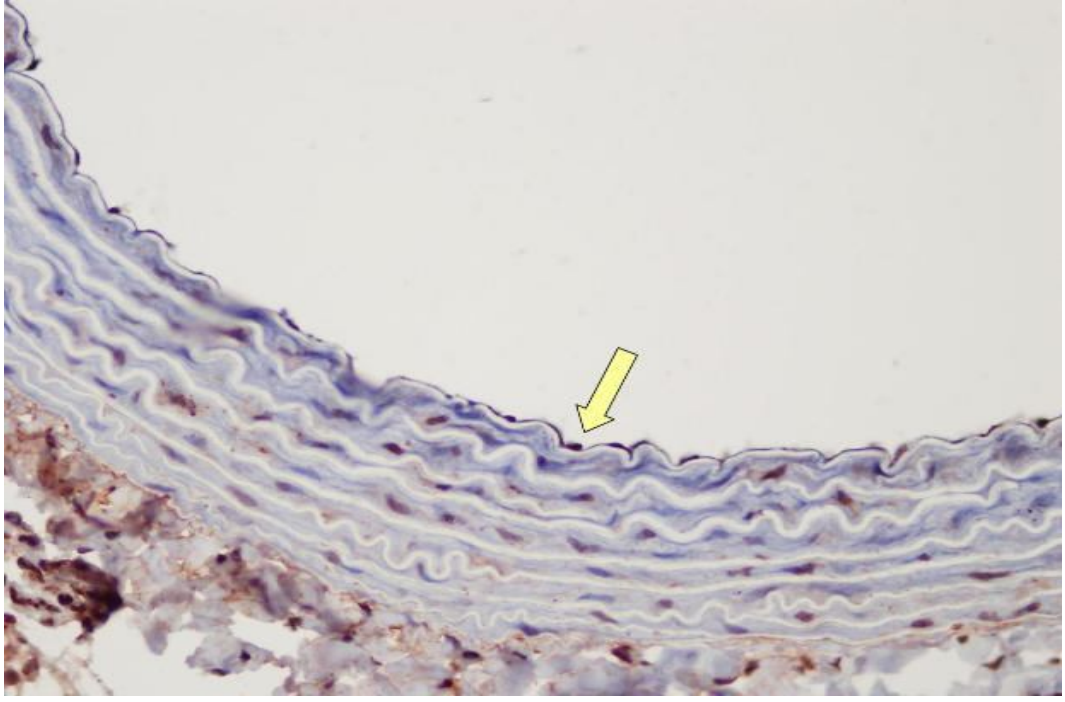
Yapılan analizler sonucunda grup I ve grup III histopatolojik doku örneklerinde damar endotelinde hafif (+) VCAM-1 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4 ve 6). Grup II damar endotelinde ise (+++) VCAM-1 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 5).



Şekil 4. Grup I damar endotelinde (+) VCAM-1 ekspresyonu . (x400).



Şekil 5. Grup II damar endotelinde (+++) VCAM-1 ekspresyonu . (x400).



**Şekil 6.** Grup III damar endotelinde (+) VCAM-1 ekspresyonu . (x400)

#### 4. TARTIŞMA

Aterosklerozun patogeneğinde pek çok risk faktöründen söz edilmiş ve son yıllarda elde edilen verilerde, hipertansiyon, lipid metabolizmasında hasar, diabetes mellitus, sigara içimi gibi geleneksel risk faktörleri dışında, artan plazma homosistein konsantrasyonunun hızlandırılmış aterosklerozis ve artan serebrovasküler-iskemik kalp hastalıkları ile ilişkisinden dolayı aterosklerotik vasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (129). Ancak yapılan sınırlı sayıda hayvan ve hücre kültürü çalışmaları ile homosisteinin aterosklerozdaki rolü ve moleküler etki mekanizması açıklık kazanmamıştır.

Homosistein (Hcy; 2-amino-4-merkaptobutirik asit); metiyonin metabolizması sırasında bir ara ürün olarak oluşan ve proteinlerin yapısına katılmayan bir aminoasittir. Metiyonin ile homosistein birbirlerinin prekürsörleri niteliğinde olup, birinin detoksifikasyonu diğerinin sentez aşamasını kapsamaktadır ve bu ilişkinin temeli metiyonin metabolizmasını oluşturmaktadır (130). Yüksek plazma total homosistein düzeylerinin kardiovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu ilk kez 1969 yılında McCully tarafından homosistinürinin tanımlanmasıyla ortaya konulmuştur. McCully, hiperhomosisteinemi ve homosistinüri görülen çocuklarda ilerlemiş damar lezyonlarına rastlamış ve metiyonin metabolizmasındaki bir bozukluğun buna sebep olduğunu ileri sürmüştür (131). Son yıllarda, ılımlı düzeyde hiperhomosisteineminin artmış periferik damar hastalıkları, venöz tromboz ve inme ile ilişkili olduğu ayrıca yükselen Hcy düzeyinin, kısmen endotelial hücre bozukluğuna kaynaklık ederek kardiyovasküler hastalık oluşumuna sebebiyet verdiği ortaya konulmuştur (132, 133). Stampfer ve ark. (134) yaptıkları çalışmada, homosistein düzeyinin 15 µmol ve üzerinde olan kişilerde miyokard enfarktüs riskinin diğerlerine göre üç kat fazla olduğunu ve 12 µmol düzeyinin dahi riski iki kat arttırdığını bildirmişlerdir. Koroner, serebral veya periferik arter hastalıklarında, homosistein konsantrasyonunun % 15–40 arttığı (135), ultrasonografi ölçümüyle karotid arter duvarının kalınlaşması belirlenen ateroskleroz belirtileri göstermeyen hastalarda da homosistein konsantrasyonunun arttığı bulunmuştur (136, 137).

Hiperhomosisteinemi ile kardiovasküler hastalık riskinin artması arasındaki ilişki yapılan çok sayıda epidemiyolojik çalışmada bildirilmiştir (136, 138, 139), aterosklerozun patogeneğinde homosisteinin etki mekanizması açıkça

bilinmemektedir. Bununla birlikte, hiperhomosisteineminin aterotrombojenitesini açıklamayabilmek için birtakım patofizyolojik mekanizmalar öne sürülmüştür (129).

Homosisteinin aterojenik etkilerinin kısmen inflamatuvar cevabı artırarak (VCAM: Vasculer Cell Adhesion Molecules ekspresyonunu artırma yoluyla) gösterdiği ve bunun sonucunda damar duvarında lökosit aktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (140). Yapılmış olan bazı hayvan deneylerinde, artmış plazma Hcy düzeyinin VCAM-1 ekspresyonunu stimule ettiği ileri sürülmüştür (141). Hofmann ve arkadaşlarının farelerle yaptıkları çalışmalar sonucu yine hiperhomosisteineminin VCAM-1 ekspresyonunu artırdığını görmüşlerdir (142). Taiwandaki bireylerde 2007 yılında yapılmış olan bir çalışmada ise MTHFR 677 C/T gen polimorfizminin plazma VCAM-1 düzeyi ile bariz şekilde ilişkili olduğu gösterilmiş olup, hiperhomosisteineminin stimule ettiği artmış plazma VCAM düzeyinin aterosklerozun başlangıcına neden olduğu öne sürülmüştür (143). Tabii ki sadece MTHFR 677 C/T gen polimorfizmine bağlı olmayıp diyetin de stimule ettiği hiperhomosisteineminin aortik endoteliumda VCAM-1 ekspresyonuna neden olduğu yine yapılan fare deneyleri ile ortaya konulmuştur (140).

Cybulsky ve ark. (144) yaptıkları bir çalışmada farelerde direkt olarak VCAM-1 ve ICAM-1 'in aterosklerozisteki rolleri karşılaştırılmıştır. VCAM-1 ve ICAM-1 Ig gen süperailisinin endotelial adezyon molekülleri olup arterlerin iç membranında monosit kümelenmesini teşvik ederek aterogenesisine neden olan proteinlerdir. Bu çalışmada elde edilen veriler VCAM-1 eksikliğinde Ldlr<sup>-/-</sup> farelerin aortları aracılığıyla belirgin biçimde erken köpük hücre lezyonlarının oluşumunun azaldığını ortaya koymakla birlikte VCAM-1'in aterosklerozisin başlamasında temel bir rolü olduğunu göstermiştir. VCAM-1'in bu modeldeki ekspresyonu belirgin biçimde düşmüştür ancak ortadan kalkmamıştır ve VCAM-1'in tamamıyla yok olması durumunda çok daha olumsuz sonuçların ortaya çıkabileceği olasıdır.

Silverman ve ark. (69) yaptıkları bir çalışmada plazma homosisteindeki artışın insan endotel hücresinde VCAM-1 ekspresyonunu ve monositler üzerine bağlanmasını arttırdığını ve sinerjik biçimde TNF-alfa gibi inflamatuvar sitokinlerle etki ettiği kanıtlanmıştır. Endotel hücreler üzerine homosisteinden kaynaklanan monosit adezyonunun klinik olarak belirli konsantrasyonlardaki COX inhibitörleri tarafından tümüyle kaldırabildiğini göstermişlerdir.

Deneysel hiperhomosisteinemi modelinde melatonin uygulamasının VCAM-1 düzeyleri üzerine etkileri ilk kez bu çalışmamızda tespit edilmiştir. Çalışmamızda, 45 gün yüksek metiyonin diet uygulaması sonrası plazma Hcy seviyelerinin ratlarda arttığını ve diet ile oluşan plazma Hcy seviyesinin yükselmesinin ratların aortlarında VCAM-1 adezyon molekülünün ekspresyonunu stimule edebildiğini gözlemledik. Kontrole göre metiyonin uygulanan ratlarda serum total homosistein düzeylerinde istatistiksel olarak oldukça önemli düzeyde artma ( $P<0.0001$ ), diğer taraftan, Homosistein + Melatonin grubu ratların serum total homosistein düzeylerinde Homosistein grubu ratlara göre istatistiksel olarak oldukça önemli düzeyde azalma ( $P<0.0001$ ) vardı. Melatonin eklenmesinden sonraki en önemli şey, Hcy seviyelerinde azalma ile beraber aortik endoteliumda VCAM-1 adezyon molekülünün ekspresyonundaki azalmadır. Yeni yapılan çalışmalarda bunun ateroskleroz patogenezinde inflamatuvar süreçte yeni bir rol olduğunu düşündürmektedir (145). Aterosklerotik lezyonların oluşumunda tespit edilebilen en erken selüler cevaplardan birisi vasküler endotele monositlerin gelmesidir. Monositlerin böyle birikmesi spesifik adezyon moleküllerin endotelial ekspresyonu ile olmaktadır (145). Adezyon molekülleri inflame dokuya, lökositlerin direkt migrasyonuna neden olabilme gibi yetenekleri ile karakterizedirler, ama bunlar ayrıca endotelial hücreler, fibroblastlar, ve düz kas hücreleri gibi diğer bazı hücre tipleri üzerinede biyolojik etkiler oluşturabilmektedir (146). VCAM-1 ekspresyonun hiperhomosisteinemisi olan apoE-null farelerde arttığı yeni yapılan çalışmada bildirilmiştir. Diğer kemokinler ile birlikte, sirkülasyondaki monositlere bağlanarak bunların hücrelere gitmesine, bağlanmasına ve subendotelial aralığa göç olmalarını sağlarlar (19). Bizim çalışmamızda hiperhomosisteinemide artmış VCAM-1 ekspresyonunun damar duvarına monositlerin adezyonundan sorumlu olabileceğini göstermektedir.

Cuzzocrea ve ark. (147) yaptıkları bir çalışmada melatoninin vasküler sistem üzerinde koruyucu etkisinin olduğunu ve bunu da kısmen adezyon moleküllerinin (ICAM-1) ekspresyonunu inhibe ederek ve bunun sonucunda da nötrofil yoluyla oluşan hücresel hasarı engelleyerek gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmamızda, yüksek derecede metiyonin dietle beslenen ratlara melatonin eklenmesinin aortta VCAM-1 ekspresyonunu oldukça baskıladığı ve kanda Hcy seviyelerini yükselmesini engellediğini gözlemledik. Hcy seviyesini düşürücü bu etki endotel hücrelerine

monositlerin adezyonunun inhibisyonu gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu inhibisyonuna da katkıda bulunabilir. Hepsi birlikte ele alındığında, bizim çalışmamızda homosisteinin aterojenik bir etki oluşturabileceği ve VCAM-1 ekspresyonunun inflamatuvar cevabı artırması ile damar duvarına lökositlerin gelmesini ve aktive olmasını sağladığı ifade edilebilir. Bununla birlikte, homosistein seviyelerinin azalmasına paralel olarak, melatonin aorta VCAM-1 ekspresyonunu oldukça baskılamıştır, bu da kemokin ile oluşan mekanizmaları içeren melatonin terapisinin antiinflamatuvar etkilerini düşündürmektedir; böyle etkiler aterosklerotik hastalarda faydalı olabilir.

## 5. KAYNAKLAR

1. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990 s. Nature 1993; 362: 801-809.
2. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. (Çev. Editor Aytekin Y). “Temel Histoloji”, 7. Baskı, Barış Kitabevi, 1998; 222-225.
3. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, Glagov S, Insull W, Richardson M, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation 1992; 85: 391-405.
4. Kumar V, Robbins SL, Cotran RS. Temel Patoloji. (Çev. editörü Çevikbaş U.) 7. baskı, İstanbul, Nobel tıp kitapevleri, 2003;328-338
5. Noll G. Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. Atherosclerosis 1998; 140: 3-9.
6. Tegos TJ, Kalodiki E, Sabetai MM, Nicolaides AN. The genesis of atherosclerosis and risk factors: a review. Angiology 2001; 52: 89-98.
7. Schieken RM. The management of the family at high risk for coronary heart disease. Cardiol Clin 1989; 7: 467-477.
8. Stein O, Stein Y. Atheroprotective mechanisms of HDL. Atherosclerosis 1999; 144: 285-301.
9. Siegel D, Grady D, Browner WS, Hulley SB. Risk factor modification after myocardial infarction. Ann Intern Med 1988; 109: 213-218.
10. Kullo IJ, Gau GT, Tajik AJ. Novel risk factors for atherosclerosis. Mayo Clin Proc 2000; 75: 369-380.

11. Masser PA, Taylor LM, Jr., Porter JM. Importance of elevated plasma homocysteine levels as a risk factor for atherosclerosis. *Ann Thorac Surg* 1994; 58: 1240-1246.
12. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *Jama* 2001; 285: 2481-2485.
13. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis-an update. *N Engl J Med* 1986; 314: 488-500.
14. Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res* 2002; 91: 281-291.
15. Biasucci LM, Liuzzo G, Ciervo A, Petrucca A, Piro M, Angiolillo DJ. Antibody response to chlamydial heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107: 3015-3017.
16. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-874.
17. TEKHARF. Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı Risk Profili ve Kalp Hastalığı. İstanbul: Ohan Matb Ltd Şti; 2000.
18. Framingham Heart Study, National Heart, and Blood Institute, update: December 2002.
19. Nakashima Y, Raines EW, Plump AS, Breslow JL, Ross R. Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the ApoE-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 842-851.
20. Luster AD. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998; 338: 436-445.

21. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002; 106: 913-919.
22. Hansson G. Pathogenesis of Atherosclerosis. Crawford MH, DiMarco JP (editors): *Cardiology*. 1st edition. Mosby International Ltd. England, 2003.
23. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005; 111: 3481-3488.
24. Guilliams T. Homocysteine - a risk factor for vascular diseases: Guidelines for the clinical practice. *JANA* 2004; 7: 11-24. .
25. Cooper A. Biochemistry of sulfur-containing amino acids. *Annu Rev Biochem Review*. 1983; 52: 187-222.
26. Kalikiri P. Hyperhomocysteinaemia - a risk factor worth considering. *JACM* 2003; 4: 147-151.
27. Finkelstein J, Martin J. Homocysteine. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2000; 32: 385-389.
28. Challem J, Dolby V. *Homocysteine: The Secret Killer*. Keats Publishing: New Canaan, CT, 1997.
29. Miller A, Kelly G. Methionine and homocysteine metabolism and the nutritional prevention of certain birth defects and complications of pregnancy. *Alt Med Rev* 1996; 1: 220-235.
30. Mudd S, Levy H, Skovby F. Disorders of trans-sulfuration, in: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle (Eds.), *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, McGraw-Hill, New York, 1995; 1279-1328.
31. Brattström L, Israelsson B, Lindgärde F, Hultberg B. Higher total plasma homocysteine in vitamin B12 deficiency than in heterozygosity for

- homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Metabolism* 1988; 37: 175-178. .
32. Finkelstein J, Martin JJ. Homocysteine. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2000; 32: 385-389.
  33. Mattson M, Kruman I, Duan W. Folic acid and homocysteine in age-related disease. *Ageing Res Rev.* 2002; 1: 95-111.
  34. Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 517-527.
  35. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 217-246.
  36. Fallest-Strobl P, Koch D, Stein J, McBride P. Homocysteine: a new risk factor for atherosclerosis. *Am Fam Physician* 1997; 56: 1607-1610.
  37. Miner SES, Evroski J, Cole DEC. Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: An update. *Clinical Biochemistry* 1997; 30: 189-201.
  38. Di Buono M, Wykes LJ, Cole DE, Ball RO, Pencharz PB. Regulation of sulfur amino acid metabolism in men in response to changes in sulfur amino acid intakes. *J Nutr* 2003; 133: 733-739.
  39. MacCoss MJ, Fukagawa NK, Matthews DE. Measurement of intracellular sulfur amino acid metabolism in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: 947-955.
  40. Brosnan J, Brosnan M. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J Nutr* 2006; 136: 1636-1640.
  41. Catoni GL. S-Adenosylmethionine; a new intermediate formed enzymatically from L-methionine and adenosinetriphosphate. *J Biol Chem* 1953; 204: 403-416.

42. Fontecave M, Atta M, Mulliez E. S-adenosylmethionine: nothing goes to waste. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 243-249.
43. Clark S, Banfield K. S-Adenosylmethionine-dependent methyltransferases. In: Carmel R, Jacobsen DW, (editors). *Homocysteine in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press; 2001: 63–78.
44. Aposhian HV. Enzymatic methylation of arsenic species and other new approaches to arsenic toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 397-419.
45. Moat SJ, Lang D, McDowell IF, Clarke ZL, Madhavan AK, Lewis MJ. Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. *J Nutr Biochem* 2004; 15: 64-79.
46. Langman LJ, Cole DE. Homocysteine. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1999; 36: 365-406.
47. Seshadri N, Robinson K. Homocysteine, B vitamins, and coronary artery disease. *Med Clin North Am* 2000; 84: 215-237.
48. McKeever MP, Weir DG, Molloy A, Scott JM. Betaine-homocysteine methyltransferase: organ distribution in man, pig and rat and subcellular distribution in the rat. *Clin Sci (Lond)* 1991; 81: 551-556.
49. Obeid R, Herrmann W. Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *FEBS Lett* 2006; 580: 2994-3005.
50. Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998; 157: 40-44.
51. Finkelstein J. Regulation of homocysteine metabolism. In: Carmel R, Jacobsen DW (editors). *Homocysteine in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press; 2001: 92–99.

52. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem* 1990; 1: 228-237.
53. Finkelstein J. Metabolic regulatory properties of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 1694-1699.
54. Corrales F, Pérez-Mato I, Sánchez Del Pino M, Ruiz F, Castro C, García-Trevijano E. Regulation of mammalian liver methionine adenosyltransferase. *J Nutr* 2002; 132: 2377-2381.
55. Vitvitsky V, Moshasov E, Tritt M, Ataulakhanov F, Banerjee R. Redox regulation of homocysteine-dependent glutathione synthesis. *Redox Rep* 2003; 8: 57–63.
56. Taoka S, Ohja S, Shan X, Kruger WD, Banerjee R. Evidence for heme-mediated redox regulation of human cystathionine beta-synthase activity. *J Biol Chem* 1998; 273: 25179-25184.
57. Banerjee R, Zou C. Redox regulation and reaction mechanisms of human cystathionine beta-synthase: a PLP-dependent hemosensor protein. *Arch Biochem Biophys* 2005; 433: 144–156.
58. Chen Z, Banerjee R. Purification of soluble cytochrome b5 as a component of the reductive activation of porcine methionine synthase. *J Biol Chem* 1998; 273: 26248-26255.
59. Mosharov E, Crawford M, Banerjee R. The quantitatively important relationship between homocysteine metabolism and glutathione synthesis by the transsulfuration pathway and its regulation by redox changes. *Biochemistry* 2000; 39: 13005–13011.
60. Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 473-501.

61. Ueland P, Refsum H, Stabler S, Malinow M, Andersson A, Allen R. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764-1779.
62. Jacobsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem* 1998; 44: 1833-1843.
63. Gerritsen T, Vaughn J, Waisman H. The identification of homocysteine in the urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1962; 9: 493-496.
64. Carson NA ND. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child* 1962; 37: 505-513.
65. Refsum H, Ueland PM. Recent data are not in conflict with homocysteine as a cardiovascular risk factor. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9: 533-539.
66. Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, van Lente F, Gupta A. Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate. Common and independent reversible risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1995; 92: 2825-2830.
67. Harpel PC, Zhang XX, Bornth W. Homocysteine and hemostasis: Pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis. *J. Nutr.*, 1996; 126: 1285-1289.
68. Brwanger CS, Jeremy JY, Stansby G. Homocysteine and vascular disease. *British Journal of Surgery*, 1995; 82: 726-731.
69. Silverman MD, Tumuluri RJ, Davis M, Lopez G, Rosenbaum JT, Lelkes PI. Homocysteine upregulates vascular cell adhesion molecule-1 expression in cultured human aortic endothelial cells and enhances monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 587-592.
70. Khajuria A, Houston DS. Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. *Blood*, 2000; 96: 966-972.

71. Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA, Rodgers GM. Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1327-1333.
72. Stambler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J. Clin. Invest.*, 1993; 91: 308-318.
73. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991; 88: 1906-1914.
74. Nishinaga M, Ozawa T, Shimada K. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 1381-1386.
75. Hajjar KA. Homocysteine-induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor. *J Clin Invest* 1993; 91: 2873-2879.
76. Feldman M. Intercellular adhesion molecules. In: Roitt I, Brastaff J, Male D, eds. *Immunology*. Barsezona: Mosby, 1996; 143-5.
77. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules--Part 1. *N Engl J Med* 1996; 334: 1526-1529.
78. Lyons AJ, Jones J. Cell adhesion molecules, the extracellular matrix and oral squamous carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007; 36: 671-679.
79. G D. Adezyon Molekülleri. *Astım Allerji İmmünoloji* 2: 2004; 95-102.
80. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 6911-6925.

81. Behrens J. Cadherins as determinants of tissue morphology and suppressors of invasion. *Acta Anat (Basel)* 1994; 149: 165-169.
82. Nagafuchi A, Shirayoshi Y, Okazaki K. ve ark. Transformation of cell adhesion properties by exogeneously introduced E-cadherin cDNA. *Nature* 1987; 329: 341-3.
83. Yang B, Zahang L, Turley E. Identification of two hyaluronan binding domains in the hyluronon reseoptor RHAMM. *J. Biol. Chem* 1993; 268: 8617-8623.
84. Patarroyo M. Leukocyte adhesion in host defense and tissue injury. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 60: 333-348.
85. Wilson G. *Cell Adhesion Molecules Fundamental Facts*, R&D Systems, 1996.
86. Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK, Dinarello CA, Springer TA. Induction by IL 1 and interferon-gamma: tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J Immunol* 1986; 137: 245-254.
87. Crockard A, Boylan M. Corticosteroids Effects on Neutrophil Adhesion Molecules. *Int J Clin Laboratuvar Res* 1998; 28: 110-115.
88. Tanaka S, Sakata Y, Morimoto K, Tambe Y, Watanabe Y, Honda G. Influence of natural and synthetic compounds on cell surface expression of cell adhesion molecules, ICAM-1 and VCAM-1. *Planta Med* 2001; 67: 108-113.
89. Kotovuori A, Pessa-Morikawa T, Kotovuori P, Nortamo P, Gahmberg CG. ICAM-2 and a peptide from its binding domain are efficient activators of leukocyte adhesion and integrin affinity. *J Immunol* 1999; 162: 6613-6620.
90. Ozaki H, Ishii K, Horiuchi H, Arai H, Kawamoto T, Okawa K. Cutting edge: combined treatment of TNF-alpha and IFN-gamma causes redistribution of junctional adhesion molecule in human endothelial cells. *J Immunol* 1999; 163: 553-557.

91. Foster CA. VCAM-1/alpha 4-integrin adhesion pathway: therapeutic target for allergic inflammatory disorders. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 270-277.
92. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 1336-1342.
93. Fukuda T, Kawano H, Ohyama K, Li HP, Takeda Y, Oohira A. Immunohistochemical localization of neurocan and L1 in the formation of thalamocortical pathway of developing rats. *J Comp Neurol* 1997; 382: 141-152.
94. Oleszewski M, Gutwein P, von der Lieth W, Rauch U, Altevogt P. Characterization of the L1-neurocan-binding site. Implications for L1-L1 homophilic binding. *J Biol Chem* 2000; 275: 34478-34485.
95. Szekanecz Z, Haines GK, Harlow LA, Shah MR, Fong TW, Fu R. Increased synovial expression of the adhesion molecules CD66a, CD66b, and CD31 in rheumatoid and osteoarthritis. *Clin Immunol Immunopathol* 1995; 76: 180-186.
96. Lasky LA. Selectins: interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation. *Science* 1992; 258: 964-969.
97. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346: 425-434.
98. Petzelbauer P, Schechner J, Pobel J. Endothelium. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB (editors). *Dermatology in General Medicine*, 5th ed. New York: Mc Graw-Hill Inc 1999; 305-320.
99. Paulson J. Selectin/ carbohydrate- mediated adhesion of leukocytes. In: Harlan JM, Lui DY, eds. *Adhesion: Its role in inflammatory disease*. New York: WH Freeman 1992; 104-135.

100. Lasky L. The homing receptor (LECAM-1/L-selection). In: Harlan Jm, Liu DY, (editors) Adhesion: Its role in inflammatory disease. New York: WH Freeman, 1992; 5-88.
101. Watson S, Fennle C. Neutrophil influx into an inflammatory site inhibited by soluble homing receptor-IgG chimera. Nature 1991; 349: 164-167.
102. Brezinski A. Melatonin in humans. N Engl J Med 1997; 336: 186-196.
103. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. Braz J Med Biol Res 1993; 26: 1141-1155.
104. Ozguner F, Kerman M, Delibaş N, Gultekin F. The relationship of age related decrease in melatonin with oxidative damage and mental status. Biomed Res 2000; 11: 61-65.
105. Lerner A, Case J, Takahashi Y. Isolation of melatonin, pineal factor that lightens melanocytes. J. Am. Chem. Soc. 1958; 80: 2587.
106. Arendt J, Skene DJ, Middleton B, Lockley SW, Deacon S. Efficacy of melatonin treatment in jet lag, shift work, and blindness. J Biol Rhythms 1997; 12: 604-617.
107. Turgut M, Ozkaya B. Pineal bölge tümörleri ve cerrahi yaklaşım şekilleri. Arsiv, 2000; 10: 100.
108. Argyriou A, Prast H, Philippu A. Melatonin facilitates short-term memory. Eur J Pharmacol 1998; 349: 159-162.
109. Baydaş G, Gursu MF, Yilmaz S, Canpolat S, Yasar A, Cikim G.. Daily rhythm of glutathione peroxidase activity, peroxidation and glutathione levels in tissues of pinealectomized rats. Neuroscience Letters. 2002; 23: 195-198.
110. Lee PP, Shiu SY, Chow PH, Pang SF. Regional and diurnal studies of melatonin and melatonin binding sites in the duck gastro-intestinal tract Biol Signals. 1995; 4: 212-224.

111. Yu L, Schaad NC, Klein DC. Calcium potentiates cyclic AMP stimulation of pineal arylalkylamine N-acetyltransferase. *J Neurochem* 1993; 60: 1436-1443.
112. Yuwiler A. Sympathetic innervation of the pineal gland: effect of thyroxine and cortisol. *Melatonin Rhythm System. Int. Symp., Bethesda, Md., 1981; 42-61.*
113. Reiter R, Trakulrungsi W, Trakulrungsi C. Pineal melatonin production: endocrine and age effects *Melatonin Rhythm System, Int. Symp., Bethesda, Md., 1981; 143-154.*
114. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *Jama* 1995; 274: 1526-1533.
115. Marangos PJ, Zis AP, Clark RL, Goodwin FK. Neuronal, non-neuronal and hybrid forms of enolase in brain: structural, immunological and functional comparisons. *Brain Res* 1978; 150: 117-133.
116. Stehle JH, Foulkes NS, Molina CA, Simonneaux V, Pevet P, Sassone-Corsi P. Adrenergic signals direct rhythmic expression of transcriptional repressor CREM in the pineal gland. *Nature* 1993; 365: 314-320.
117. Sugden D. Adrenergic mechanisms regulating pineal melatonin synthesis. *Advances in Pineal Res, 1991; 5: 33.*
118. Ubbink J, Vermaak W, Von-der A, Becker P. Vitamin B12, Vitamin B6 and Folate Nutritional Status in Men with Hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr.* 1993; 57: 47-53.
119. Reppert SM, Perlow MJ, Tamarkin L, Klein DC. A diurnal melatonin rhythm in primate cerebrospinal fluid. *Endocrinology* 1979; 104: 295-301.
120. Young SN, Gauthier S, Kiely ME, Lal S, Brown GM. Effect of oral melatonin administration on melatonin, 5-hydroxyindoleacetic acid, indoleacetic acid, and cyclic nucleotides in human cerebrospinal fluid. *Neuroendocrinology* 1984; 39: 87-92.

121. Arendt J, Deacon S, English J, Hampton S, Morgan L. Melatonin and adjustment to phase shift. *J Sleep Res* 1995; 4: 74-79.
122. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci* 2000; 7: 444-458.
123. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 1997; 29: 363-372.
124. Tan D, Reiter RJ, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Barlow-Walden LR. Both physiological and pharmacological levels of melatonin reduce DNA adduct formation induced by the carcinogen safrole. *Carcinogenesis* 1994; 15: 215-218.
125. Reiter RJ, Tan DX, Poeggeler B, Menendez-Pelaez A, Chen LD, Saarela S. Melatonin as a free radical scavenger: implications for aging and age-related diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 719: 1-12.
126. Pieri C, Marra M, Gaspar R, Damjanovich S. Melatonin protects LDL from oxidation but does not prevent the apolipoprotein derivization. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 22: 203-209.
127. Tan D, Chen L, Poeggeler B, Manchester L, Reiter R. Melatonin: A potent Endogenous Hydroxyl radical scavenger. *Endocr J.* 1993; 1: 57-60.
128. Baydas G, Ozer M, Yasar A, Tuzcu M, Koz ST. Melatonin improves learning and memory performances impaired by hyperhomocysteinemia in rats. *Brain Res* 2005; 1046: 187-194.
129. Durand Philippe. Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab. Invest.*, 2001 81: 5: 645-672.
130. Sainz RM, Reiter RJ, Mayo JC, Cabrera J, Tan DX, Qi W, et al. Changes in lipid peroxidation during pregnancy and after delivery in rats: effect of pinealectomy. *J Reprod Fertil* 2000; 119: 143-149.

131. Baydas G, Ozveren F, Akdemir I, Tuzcu M, Yasar A. Learning and memory deficits in rats induced by chronic thinner exposure are reversed by melatonin. *J Pineal Res* 2005; 39: 50-56.
132. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Lopez-Burillo S, Sainz RM, Mayo JC. Melatonin: detoxification of oxygen and nitrogen-based toxic reactants. *Adv Exp Med Biol* 2003; 527: 539-548.
133. Seegar H, Mueck AO, Lippert TH. Effect of melatonin and metabolites on copper-mediated oxidation of low density lipoprotein. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 283-284.
134. Stamfer MJ, Malinow MR, Willet WC. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in U.S. physicians. *JAMA* 1992; 268: 877-881.
135. Malinow MR. Homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases. *J Intern Med* 1994; 236: 603-617.
136. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhub J, D'Agostino RB, Wolf PA. Nonfasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1077-1080.
137. Malinow MR, Nieto FJ, Szklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocyst(e)ine in asymptomatic adults. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation* 1993; 87: 1107-1113.
138. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 31-62.
139. Ueland PM, Refsum H, Beresford SA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 324-332.

140. Li M, Chen J, Li YS, Feng YB, Gu X, Shi CZ. Folic acid reduces adhesion molecules VCAM-1 expression in aortic of rats with hyperhomocysteinemia. *Int J Cardiol* 2006; 106: 285-288.
141. Wang G, Woo CW, Sung FL, Siow YL. Increased monocyte adhesion to aortic endothelium in rats with hyperhomocysteinemia: role of chemokine and adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1777-1783.
142. Hofmann MA, Lalla E, Lu Y, Gleason MR, Wolf BM, Tanji N, et al. Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Clin Invest* 2001; 107: 675-683.
143. Juo SH, Liao YC, Kuo CL, Wang Y, Huang CS, Chiang HC, et al. The MTHFR 677 C/T polymorphism influences plasma levels of adhesion molecules and nitric oxide. *Thromb Res* 2008; 121: 549-554.
144. Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 107: 1255-1262.
145. Valente AJ, Rozek MM, Sprague EA, Schwartz CJ. Mechanisms in intimal monocyte-macrophage recruitment. A special role for monocyte chemoattractant protein-1. *Circulation* 1992; 86: 20-25.
146. Takahashi M, Ikeda U, Masuyama J, Kitagawa S, Kasahara T, Saito M, et al. Involvement of adhesion molecules in human monocyte adhesion to and transmigration through endothelial cells in vitro. *Atherosclerosis* 1994; 108: 73-81.
147. Cuzzocrea S, Costantino G, Mazzon E, Micali A, De Sarro A, Caputi AP. Beneficial effects of melatonin in a rat model of splanchnic artery occlusion and reperfusion. *J Pineal Res* 2000; 28: 52-63.

## **6. ÖZGEÇMİŞ**

1982 Yılında Elazığ'ın Karakoçan ilçesinde doğdum. İlk ve ortaöğretimimi Elazığ'da tamamladım. 1998 yılında girdiğim İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesinden 2004 yılında mezun oldum. Haziran 2005 tarihinden itibaren Fırat Üniversitesinde Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniğinde ihtisasa devam etmekteyim.