

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**KORONER ARTER HASTALIĞINDA LCAT GEN
POLİMORFİZMİ VE İLİŞKİLİ İNFLAMASYON
BİYOBELİRTEÇLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Hatice KALAYCI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Necip İLHAN**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Necip İLHAN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda; uzmanlık eğitimimde; mesleki bilgi, beceri, pratik ve teorik anlamda yetişmemi sağlayan, tez çalışmalarım sırasında benden gerekli her türlü desteği ve yardımı esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Necip İLHAN'a, sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında ve eğitimim süresince yardım ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim, iyi bir eğitimci ve yönetici olan Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Nevin İLHAN'a,

Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. İhsan HALİFEOĞLU'na, Prof. Dr. M. Ferit GÜRSU'ya, Prof. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ'a, Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a ve Doç. Dr. Dilara KAMAN'a,

Çalışmalarım sırasında yardımını gördüğüm, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Görevli Araştırma Görevlisi arkadaşlarım ile Biyokimya Laboratuvarında görevli personel arkadaşlarıma,

Tez çalışmam için gerekli örneklerin temininde yardımlarını esirgemeyen Fakültemiz Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet AKBULUT'a ve Kardiyoloji Anabilim Dalında görev yapan bütün Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma,

Bu tez çalışmasını TF. 12. 46 no'lu proje ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (FÜBAP),

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve hayatımın tüm aşamalarında olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini bir an bile eksik etmeyen ve sabırlarını sunan sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Varlığıyla güven veren, her zaman yanımda olup bir an olsun desteğini esirgemeyen, yol arkadaşım, sevgili eşim Dr. Mehmet KALAYCI'ya ve biricik kızımız Zeynep'e

Teşekkür etmekten büyük mutluluk ve onur duyarım.

Dr. Hatice KALAYCI

ÖZET

Koroner arter hastalığı (KAH), hem dünyada hem de ülkemizde ölümlerin önde gelen ana nedenlerinden biridir. Kolesterol taşınımındaki merkezi rolü nedeniyle Lesitin Kolesterol Açıltransferaz (LCAT) enzimi önemli bir proteindir ve bu protein aktivitesindeki değişiklikler KAH gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. İnterlökin-6 (IL-6) gibi sitokinler ve yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hsCRP) gibi akut faz reaktanları KAH'da kuvvetli prediktörler olarak karşımıza çıkabilmektedir. Bu çalışmanın amacı; KAH saptanan olgularda LCAT gen polimorfizminin rolünün belirlenmesi ve hastalığın etiolojisinde önemi bulunan inflamasyon biyobelirteçleri ile LCAT gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Çalışmaya; 18-80 yaş arasında olan, anjiyografik olarak KAH tanısı konmuş 200 hasta ile yine anjiyografi sonucu KAH olmadığı tespit edilmiş yaklaşık 100 sağlıklı birey dahil edildi. Serum IL-6, LCAT ve hsCRP düzeyleri ELISA yöntemiyle tayin edildi. Çalışma grubunu oluşturan kişilerin kanından izole edilmiş DNA örneklerinde LCAT gen polimorfizmi (608 C/T ve 4886 C/T) uygun oligonükleotid primerleri kullanılarak PCR yöntemi ile saptandı.

Koroner arter hastalığı grubunda Trigliserid, hsCRP ve IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, HDL ve LCAT düzeyleri ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. LCAT 4886 C/T gen polimorfizmi incelendiğinde, kontrol grubundaki 100 kişiden 55' inde homozigot genotip (CC), 33' ünde heterozigot genotip (CT) ve 12' sinde mutant genotip (TT), tek damar lezyonu olan KAH grubundaki 70 kişiden 23'ünde homozigot genotip, 30'ünde heterozigot genotip ve 17'sinde mutant genotip, çok damar lezyonu olan KAH grubundaki 130 kişiden 35'inde homozigot genotip, 60'ında heterozigot genotip ve 35' inde mutant genotip olduğu bulundu.

Sonuç olarak; KAH grubunda serum LCAT düzeyinin düşük olması ve LCAT 4886 pozisyonunda mutant genotip olan TT genotip sıklığının KAH'da daha sık olması LCAT'ın KAH'nın patogenezinde rol aldığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Koroner Arter Hastalığı, Lesitin Kolesterol Açıltransferaz, İnterlökin-6, Yüksek Duyarlıklı C-Reaktif Protein, LCAT Gen Polimorfizmi

ABSTRACT

LCAT GENE POLYMORPHISM AND RELATED INFLAMMATORY BIOMARKERS IN CORONARY ARTERY DISEASE

Coronary artery disease (CAD) is one of the leading causes of death both in our country and worldwide. The enzyme Lecithin Cholesterol Acyltransferase (LCAT) is an essential protein and changes in the activity of this protein are implicated in the development of CAD. Cytokines such as interleukin-6 (IL-6) and acute phase reactants such as high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) appear to be strong predictors in CAD. The aim of present study was to identify role of LCAT gene polymorphism in patients with CAD and to investigate relationship between LCAT gene polymorphism and inflammatory biomarkers found to be important in the etiology of disease.

The study included 200 patients aged 18-80 years who were diagnosed as CAD based on angiography and 100 healthy subjects who were proven to have no CAD by angiography. Serum IL-6, LCAT and hsCRP levels were measured by ELISA method. In DNA samples isolated from patients in the study population, LCAT gene polymorphism (608 C/T and 4886 C/T) were studied by PCR using appropriate oligonucleotide primers.

Tryglyceride, hsCRP and IL-6 levels were found to be significantly higher while HDL and LCAT levels were found to be significantly lower in CAD group when compared to control group. When LCAT 4886 C/T gene polymorphism was assessed, there was homozygous genotype in 55, heterozygous genotype in 33 and mutant genotype in 12 of the controls, while there was homozygous genotype in 23, heterozygous genotype in 30 and mutant genotype in 17 of 70 patients with single-vessel disease. However, there was homozygous genotype in 35, heterozygous genotype in 60 and mutant genotype in 35 of 130 patients with multi-vessel disease.

In conclusion, lower serum LCAT levels and higher frequency of TT genotype, the mutant genotype in LCAT 4886 position, in CAD indicate the role of LCAT in CAD pathogenesis.

Key words: Coronary Artery Disease, Lecithin Cholesterol Acyltransferase, Interleukin-6, High-Sensitivity C-Reactive Protein, LCAT Gene Polymorphism

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Koroner Arter Hastalığı	2
1.1.1. Normal Arter Yapısı	4
1.1.2. Koroner Arterler	5
1.1.2.1. Koroner Arter Anatomisi	5
1.1.2.2. Koroner Kan Akımı	6
1.1.3. Koroner Arter Hastalığında Koroner Anjiyografi	6
1.1.4. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri	7
1.1.4.1. Lipid Risk Faktörleri	8
1.1.4.1.1. Kolesterol	9
1.1.4.1.2. Lipoproteinler	11
1.1.4.1.2.1. Şilomikronlar	14
1.1.4.1.2.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein	14
1.1.4.1.2.3. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein	15
1.1.4.1.2.4. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein	16
1.1.4.1.3. Trigliseridler (Triaçilgliseroller)	19
1.1.4.2. Lipid Dışı Risk Faktörleri	20
1.1.4.2.1. Yaş	20
1.1.4.2.2. Cinsiyet	20
1.1.4.2.3. Aile Öyküsü	21
1.1.4.2.4. Sigara Kullanımı	21
1.1.4.2.5. Hipertansiyon	22

1.1.4.2.6. Diabetes Mellitus	22
1.1.4.2.7. Obezite ve Fiziksel İnaktivite	23
1.2. Ateroskleroz	24
1.3. Lesitin Kolesterol Açıltransferaz (LCAT)	27
1.3.1. LCAT Geni ve Enzim Yapısı	29
1.3.2. LCAT ve Ateroskleroz	29
1.3.3. LCAT Metabolizmasının Genetik Bozuklukları	31
1.4. C Reaktif Protein	32
1.4.1. C Reaktif Protein ve Kardiyovasküler Hastalıklar	36
1.4.2. C Reaktif Protein ve Ateroskleroz	38
1.5. İnterlökin-6	38
1.5.1. İnterlökin-6 ve Kardiyovasküler Hastalıklar	40
2. GEREÇ VE YÖNTEM	42
2.1. Hasta ve Kontrol Grupları İçin Bireylerin Seçimi	42
2. 2. Kan Örneklerinin Alınması	42
2. 3. Biyokimyasal Ölçümler	43
2. 3. 1. Serum Kolesterol Düzeylerinin Ölçümü	43
2. 3. 2. Serum HDL Düzeylerinin Ölçümü	43
2. 3. 3. Serum LDL Düzeylerinin Ölçümü	43
2. 3. 4. Serum Trigliserid Düzeylerinin Ölçümü	44
2. 4. Serum LCAT Enzim Düzeylerinin Ölçümü	44
2. 5. Serum hsCRP Düzeylerinin Ölçümü	46
2. 6. Serum IL-6 Düzeylerinin Ölçümü	47
2.7. Kandan DNA İzolasyonu ve Genotiplendirme	48
2. 7. 1. DNA İzolasyonu	48
2.7.2. LCAT 608 C/T ve 4886 C/T Polimorfizminin Belirlenmesi için Kullanılan Malzeme ve Aletler	49
2.7.3. LCAT 608 C/T Gen bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	50
2. 7. 3. 1. LCAT 608 C/T Gen Polimorfizminin Belirlenmesi	51
2. 7. 4. LCAT 4886 C/T Gen bölgesinin PCR ile Çoğaltılması	52
2. 7. 4. 1. LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizminin Belirlenmesi	53
2. 8. İstatistiksel Analiz	54

3. BULGULAR	55
3.1. Demografik Özellikler	55
3.2. Serum LCAT Düzeyleri	56
3.3. Serum hsCRP Düzeyleri	56
3.4. Serum IL-6 Düzeyleri	57
3.5. Serum LCAT Düzeyleri ve Diğer Parametreler Arasındaki İlişki	58
3.6. LCAT Gen Polimorfizmi Genotiplendirme Bulguları	60
3.7. Serum LCAT Düzeylerinin LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizmiyle İlişkisi	64
3.8. Serum hsCRP Düzeylerinin LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizmiyle İlişkisi	65
3.9. Serum IL-6 Düzeylerinin LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizmiyle İlişkisi	67
3.10. Lesitin Kolesterol Açıltransferaz 4886 C/T Gen Polimorfizminin Bazı Parametreler Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi	68
4. TARTIŞMA	71
5. KAYNAKLAR	79
6. EKLER	102
7. ÖZGEÇMİŞ	106

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve kesim enzimleri	49
Tablo 2. LCAT 608 C/T polimorfizmi için PCR karışımının içeriği	50
Tablo 3. LCAT 608 C/T polimorfizmi için amplifikasyon döngü programı	51
Tablo 4. LCAT 608 C/T gen polimorfizminin belirlenmesinde kesim için hazırlanan karışımın içeriği	51
Tablo 5. LCAT 4886 C/T polimorfizmi için PCR karışımının içeriği	52
Tablo 6. LCAT 4886 C/T polimorfizmi için amplifikasyon döngü programı	53
Tablo 7. LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin belirlenmesinde kesim için hazırlanan karışımın içeriği	53
Tablo 8. Kontrol ve KAH grubuna ait demografik bilgiler ve biyokimyasal parametreler	55
Tablo 9. Lesitin kolesterol açıltransferaz 4886 C/T gen polimorfizmine ait genotip ve allel frekansları	62
Tablo 10. Kontrol grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin bazı parametreler üzerindeki etkilerinin incelenmesi	69
Tablo 11. Koroner arter hastalığı tek damar grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin bazı parametreler üzerindeki etkilerinin incelenmesi	69
Tablo 12. Koroner arter hastalığı çok damar grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin bazı parametreler üzerindeki etkilerinin incelenmesi	70

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Normal arter duvarının yapısı	5
Şekil 2. Kolesterolün yapısı	9
Şekil 3. Kolesterol transportu ve metabolizması	10
Şekil 4. Lipoproteinlerin yoğunluklarına göre ayrılması	11
Şekil 5. Lipoproteinlerin yapısı	12
Şekil 6. HDL'nin yapısı	16
Şekil 7. HDL ₂ ve HDL ₃ fraksiyonlarının birbirine dönüşümü	18
Şekil 8. HDL'nin endoteldeki anti-aterojenik etkileri	18
Şekil 9. Aterosklerotik plak oluşumu	26
Şekil 10. LCAT reaksiyonunun diyagramı	27
Şekil 11. LCAT tarafından katalizlenen reaksiyon	28
Şekil 12. LCAT gen yapısı	29
Şekil 13. KAH patogenezindeki LCAT fonksiyonları	30
Şekil 14. CRP'nin moleküler yapısı	33
Şekil 15. Dolaşımdaki CRP ve reseptörünün yapısı	34
Şekil 16. Sitokinler ve inflamatuvar belirteçlerin kaynakları	35
Şekil 17. İnterlökin-6 ve reseptörünün yapısı	39
Şekil 18. LCAT standart eğrisi	45
Şekil 19. hsCRP standart eğrisi	46
Şekil 20. IL-6 standart eğrisi	47
Şekil 21. Kontrol, tek damar ve çok damar lezyonu olan KAH gruplarına ait serum LCAT düzeyleri	57
Şekil 22. Kontrol, tek damar ve çok damar lezyonu olan KAH gruplarına ait serum hsCRP düzeyleri	57
Şekil 23. Kontrol, tek damar ve çok damar lezyonu olan KAH gruplarına ait serum IL-6 düzeyleri	58
Şekil 24. LCAT düzeylerinin cinsiyete göre dağılımı	58
Şekil 25. LCAT düzeylerinin sigara kullanımına göre dağılımı	59
Şekil 26. Kontrol grubunda LCAT düzeyleri ile HDL arasındaki ilişki	60
Şekil 27. Tek damar grubunda LCAT düzeyleri ile HDL arasındaki ilişki	60
Şekil 28. Çok damar grubunda LCAT düzeyleri ile HDL arasındaki ilişki	60

Şekil 29. LCAT 4886C/T polimorfizmi PCR ürününün kesim öncesi görüntüsü	61
Şekil 30. LCAT 4886C/T polimorfizminin RFLP sonrası görüntüsü	62
Şekil 31. LCAT 608C/T polimorfizmi PCR ürününün kesim öncesi görüntüsü	63
Şekil 32. LCAT 608C/T polimorfizminin RFLP sonrası görüntüsü	63
Şekil 33. Kontrol grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	64
Şekil 34. Koroner arter hastalığı tek damar grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	65
Şekil 35. Koroner arter hastalığı çok damar grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	65
Şekil 36. Kontrol grubundaki plazma hsCRP düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	66
Şekil 37. Koroner arter hastalığı tek damar grubundaki plazma hsCRP düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	66
Şekil 38. Koroner arter hastalığı çok damar grubundaki plazma hsCRP düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	67
Şekil 39. Kontrol grubundaki plazma IL-6 düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	67
Şekil 40. Koroner arter hastalığı tek damar grubundaki plazma IL-6 düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	68
Şekil 41. Koroner arter hastalığı çok damar grubundaki plazma IL-6 düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı	68

KISALTMALAR LİSTESİ

ABCA1	: ATP-Bağlayıcı Kaset Protein A1
ADMA	: Asimetrik Dimetil-Arjinin
Apo	: Apolipoprotein
BÇ	: Baz çifti
BNP	: B Tipi Natriüretik Peptit
C	: Sitozin Bazı
CETP	: Kolesterol Ester Transfer Proteinini
CHE	: Kolesterol Esteraz
CHO	: Kolesterol Oksidaz
Cx	: Sirkümfleks Koroner Arter
CRP	: C Reaktif Protein
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksirübönükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotid Trifosfat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FIAF	: Açlık İle Uyarılmış Adipoz Faktör
FÜTF	: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
hsCRP	: Yüksek Duyarlıklı C-Reaktif Protein
HT	: Hipertansiyon
IDL	: Ara Dansiteli Lipoprotein
IL-6	: İnterlökin-6
K₃-EDTA	: Potasyum- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
kDa	: Kilodalton
LAD	: Sol Anterior İnen Koroner Arter
LCAT	: Lesitin Kolesterol Açıltransferaz
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LP-PLA2	: Lipoprotein Bağlantılı Fosfolipaz A2
MI	: Miyokard İnfarktüsü

mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
NCEP ATP III	: National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
NO	: Nitrik Oksit
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü -1
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SR-B1	: Çöpçü Reseptör B1
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
T	: Timin Bazı
TAG	: Triaçilgliserol
TBE	: Tris-Borik Asit- EDTA
TEKHARF	: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri
TG	: Trigliserid
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör-alfa
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

1. GİRİŞ

Koroner arter hastalığı (KAH), kalbi besleyen koroner arterlerin çoğunlukla aterosklerotik nedenle daralmasına bağlı olarak koroner arterlerin beslediği bölgelere yeterli kan taşınmaması sonucunda miyokarda oluşan iskemide ve nekrozun derecesine göre prognozu değişen bir hastalıktır (1). Koroner arter hastalığı, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde mortalitenin önemli bir nedenidir (2). Ülkemizde de KAH en sık ölüm nedenini oluşturmaktadır (3). Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasının 1990-2012 yıllarını kapsayan takip sonuçlarına göre, 45-74 yaş grubunda KAH kökenli ölümler yılda bin kişide erkeklerde 7,6 iken kadınlarda 3,8 oranında bulunmuştur (4). Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri çalışmasının 2013 yılı taramasında, daha önce saptanmamışken 41 katılımcıda (muayene edilenlerin % 5,2'sinde) yeni KAH varlığı tespit edilmiş olup ülkemizde söz konusu koroner kalp hastalığı yıllık insidansının 400 bin kişi olduğu belirtilmiştir (5).

Koroner arter hastalığının en sık nedeni olan ateroskleroz; orta ve büyük çaplı arterlerin, intima ve mediasında önce endotel fonksiyon bozuklukları ile başlayıp daha sonra intima tabakasında lipid birikimi ile devam eden, inflamasyon, skar ve kalsifikasyonla ilişkili olan yaygın yapısal bir hastalıktır (6). Sigara, erkek cinsiyet, hiperkolesterolemi, hipertansiyon (HT), diabetes mellitus (DM), obezite, sedanter yaşam ve metabolik sendrom gibi risk faktörlerinin ateroskleroz gelişiminde rollerinin olduğu bilinmektedir (7). Yapılan deneysel çalışmalar bu risk faktörlerinin genel inflamatuvar yanıtı uyararak vücutta yaygın bir reaksiyon oluşturduğunu göstermiştir (8). Lipid metabolizması bozukluğu, pıhtılaşma fazlalığı, oksidatif stres, inflamasyon ve endotel işlevlerinin bozukluğunu da içeren çok sayıda faktörün aterosklerozun oluşumuna katkısı olduğu bilinmektedir (9). Geleneksel kardiyovasküler risk faktörü taşımayan hastaların da kardiyovasküler olaylara maruz kalması, araştırmacıları kardiyovasküler riski daha iyi tahmin ettirecek yeni göstergeler araştırmaya sevk etmiştir. İnflamatuvar sürecin medyatörleri olan; tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) gibi sitokinler ve yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hsCRP) gibi akut faz reaktanları KAH ve bunun sonucunda oluşabilecek komplikasyonlarda kuvvetli prediktörler olarak karşımıza çıkabilmektedir (10). Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'nin matürasyonda ve

ters kolesterol taşınımındaki merkezi rolü nedeniyle lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT) enzimi önemli bir proteindir ve bu proteinin aktivitesindeki değişiklikler ateroskleroz gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (11). Lesitin kolesterol açıltransferaz, HDL metabolizmasında yer alan anahtar enzimlerden biridir (12). Bu enzimin görevi HDL'deki kolesterolü uzun zincirli kolesterol esterlerine çevirerek dokulardan HDL'ye kolesterol taşınmasını sağlamaktır. Ayrıca kolesterol geri taşınmasında önemli bir enzim olarak plazmadan karaciğere kolesterol taşınmasını ve karaciğerdeki kolesterol yıkımını tetikler (13). Şiddetli LCAT yetersizliğinde kolesterol dokularda birikir ve esterifiye olmayan kolesterol kan hücresi membranlarında ve lipoproteinlerde birikerek yapısal ve işlevsel bozulmalara neden olur. Lesitin kolesterol açıltransferaz, ateroskleroz konusunda koruyucu hekimliğe yönelik üzerinde çalışılan bir moleküldür (14). Koroner arter hastalığı geliştikten sonra yüksek tedavi maliyeti ve mortalitesi olan bir hastalıktır. Bu sebeple primer ve sekonder koruma çalışmalarının yapılması çok önemlidir. Primer korumada amaç risk faktörlerinin saptanması ve risk faktörlerinin kontrol edilerek hastalığın önlenmesidir (15).

Bu çalışmada Türkiye'de sık görülen KAH'nın muhtemel sebeplerinden biri olan LCAT proteini gen düzeyinde incelenecektir. Çalışmanın sonuçları; bize LCAT gen polimorfizminin koroner arter hastalığındaki rolünü ve inflamasyon belirteçleri ile olan ilişkisini göstermesi açısından önemlidir. Koroner arter hastalığı olan kişilerde LCAT gen polimorfizmleri varlığının gösterilmesi ileriki dönemlerde ateroskleroza önlemeye yönelik olarak yapılacak çalışmalara destek sağlaması açısından önemli bir bulgu olarak düşünülmektedir.

1.1. Koroner Arter Hastalığı

Koroner arter hastalığı hem genetik hem de çevresel etkilerden kaynaklanan kompleks bir hastalık olup, dünyada ve ülkemizdeki ölümlerin önde gelen ana nedenlerinden biridir (16-18). Önemli bir halk sağlığı sorunu olan KAH'nda kalp yetersizliği gelişme riski yüksektir. Bu nedenle belirgin KAH olan hastalarda, bölgesel veya genel sol ventrikül sistolik disfonksiyonu öncesinde sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu genellikle mevcuttur (19). İki milyona yaklaşan kalp hastası havuzuna, her yıl yaklaşık 90-100 bin yeni olgu katıldığı düşünülürse, koroner hastalıkların bir salgın gibi yayıldığı ve bu salgında koruyucu önlemlerin çok daha

etkin biçimde alınması gerekliliği açıktır (20). Ülkemizde ölüm nedenleri arasında koroner kalp hastalığına bağlı ölüm birinci sırada gelmektedir. Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri çalışmasının 1990-2012 yıllarını kapsayan takip sonuçlarına göre, 45-74 yaş grubunda KAH kökenli ölümler yılda bin kişide erkeklerde 7,6 iken kadınlarda 3,8 olarak bulunmuştur (4). Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri çalışmasının 2013 yılı taramasında, daha önce saptanmamışken 41 katılımcıda (muayene edilenlerin % 5,2'sinde) yeni koroner kalp hastalığı varlığı tespit edilmiş olup ülkemizde söz konusu koroner kalp hastalığı yıllık insidansının 400 bin kişi olduğu belirtilmiştir (5). Koroner arter hastalığının prevalansı gün geçtikçe artmaktadır. Koroner arter hastalığı; tüm ölümlerin % 33-50'sinin, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise % 50-75'inin nedenidir. Gelişmiş ülkelerdeki ölümlerin yarıya yakını, gelişmekte olan ülkelerde ise dörtte biri KAH'a bağlıdır. Koroner arter hastalığına bağlı ölüm veya miyokard infarktüs (MI) insidansı yıllık olarak yaklaşık 1,2 milyon vakadır. Bunlardan 700.000'i ilk olay ve 500.000'i rekürren ataktır (21). Mevcut tahminlere göre KAH görülme sıklığı 21.yüzyılda da giderek artacak ve hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde ölümlerin başta gelen nedeni olmaya devam edecektir (15). Koroner arter hastalığı, hastalık ve ölümün yanı sıra iş gücü kaybı ve tedavi giderleri bakımından topluma maliyeti çok yüksek bir hastalıktır. Kırk yaşındaki Amerikalı bir erkekte yaşam boyu KAH gelişme riski % 49 ve 40 yaşındaki bir kadında ise % 32'dir. Kadınlarda yaşa göre düzeltilmiş KAH riski, erkeklerin yaklaşık 1/3'ü kadardır. Yetmiş beş yaşından sonra kadınlardaki KAH oranları, erkeklerin KAH oranlarını yakalar. Bu durumun tespit edilen nedenleri arasında:

1. Kadınların daha düşük riskli bir yaşam tarzına sahip olması (örneğin daha düşük yağlı diyet gibi)
2. Daha yüksek HDL düzeylerine sahip olmaları
3. Endojen östrojenlerin olası koruyucu etkileri sayılabilir (21).

Koroner arter hastalığının en sık görülen nedeni aterosklerozdur. Aterosklerotik koroner arter hastalığı, koroner arterlerdeki ateroskleroz sonucu MI'a yol açabilen kan damarlarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır (22). Aterosklerozun ilk aşamasında karakteristik olarak arterlerin zayıf segmentlerinde gelişen yağlı çizgilenmeler görülür. Bu lezyonlar makrofajlar ve düz kas hücrelerinde

biriken lipidleri içermektedir (23). Koroner arterlerdeki uzun dönemli aterosklerotik değişiklikler, tıkaçıcı lezyonlara neden olarak kalbin yeterli perfüzyonunu engeller (24). Aterosklerozun klinik bulguları ortaya çıktığında, tutulum genellikle ileri dönemde olup, uygulanacak tedavi palyatif ve sekonder korumaya yöneliktir. Eğer hastalara subklinik dönemde tanı konulabilirse, uygulanacak etkene yönelik tedavi ile tam bir iyileşme sağlanabilir. Koroner arter hastalığının önlenmesi 3 düzeyden oluşur:

1. Primordial önleme: Koroner arter hastalığı risk faktörlerinin gelişimini önleme çabalarıdır. Örneğin kolesterol düzeylerini düşürmek için trans yağ tüketimini toplum genelinde azaltmak gibi önlemlerdir.
2. Primer önleme: Koroner arter hastalığı için bilinen risk faktörü olan kişilerde MI ve inme gibi olayları önleme çabalarından oluşur. Yaşam tarzı değişikliği, diyet, egzersiz ve risk faktörlerini iyileştirme amaçlı ilaç tedavisi birincil önleme çabalarındandır.
3. Sekonder önleme: Belirgin KAH olanlarda mortaliteyi önlemek için yapılan çabaları içerir. Bu çabalar, bireyselleştirilmiş yaşam tarzı değişikliği, risk azaltıcı ilaçlar ve kardiyak rehabilitasyondur.

Kardiyovasküler hastalıkların önemli bir kısmını oluşturan KAH, tüm yaş gruplarında önemli bir morbidite nedeni olup tüm dünyada yaşlı nüfusun artışı ile birlikte KAH prevalansı artmaktadır. Koroner arter hastalığının önlenmesi, tanısı ve tedavisi bu nedenle önemli bir halk sağlığı problemi (15).

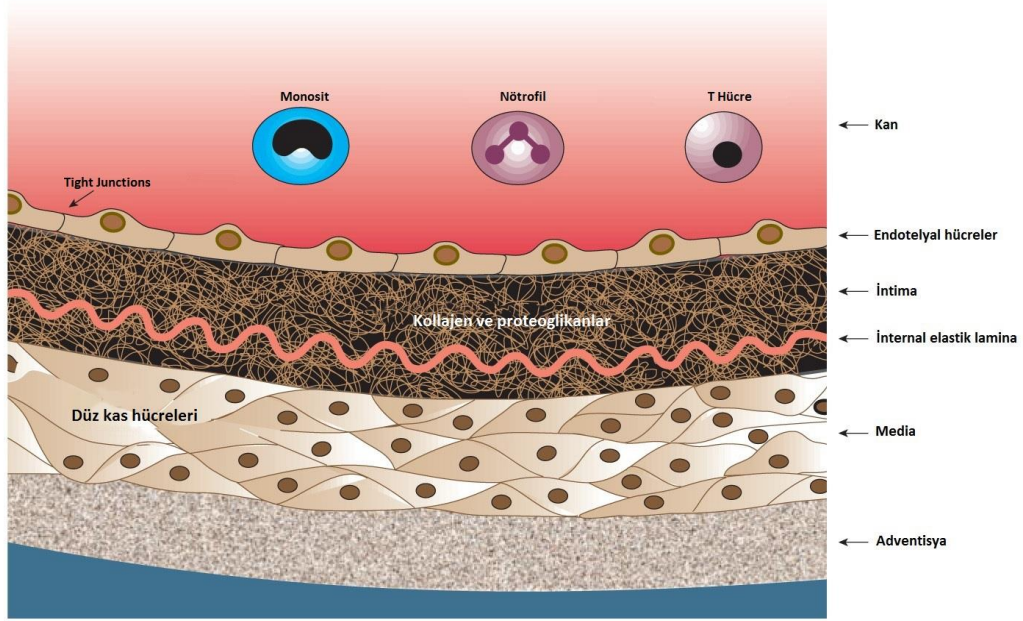
1.1.1. Normal Arter Yapısı

Normal bir arterin yapısı morfolojik olarak 3 tabaka içerir (Şekil 1):

1. İntima Tabakası
2. Media Tabakası
3. Adventisya Tabakası

En içteki lümeni çevreleyen tabaka intima'dır. Tek sıra biçiminde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelyal matriks, bazal membran ve az sayıda düz kas hücresinden oluşur. İntima tabakası normalde çok incedir, endotel hücreleri akım yönü ile uyumludur. Endotel tabakasına ek olarak intimada bir veya iki tabakadan daha kalın olan düz kas hücre 'yastıkçık' bölgeleri de mevcut olabilmektedir. Yastıkçıklar; dallanma, bifürkasyon ve sol anterior desenden koroner

arterin proksimal segmenti gibi ateroskleroza yatkınlığın olduğu bölgelerde saptanır (21). İntimadan internal elastik membran ile ayrılan, damar kesitinin en kalın bölümünü oluşturan orta tabakaya tunika media adı verilir. Tunika media, elastin ve kollajenden zengin bir yatakla sarılmış düz kas hücre yaprakları içerir (25). Tunika media, aorta gibi iletimsel damarlarda ince iken koroner arterlerde muskülerdir. Eksternal elastik membran ile mediadan ayrılan en dış tabaka ise adventisya'dır. Gevşek bir bağ dokusu yapısındaki bu tabaka, boyuna dizilmiş kollajen liflerden, vaza vazorumlardan ve sinir uçlarından oluşur (26).



Şekil 1. Normal arter duvarının yapısı (27).

1.1.2. Koroner Arterler

1.1.2.1. Koroner Arter Anatomisi

Kalbi besleyen 2 büyük koroner damar vardır. Sağ ve sol koroner arterler kendilerine ait olan aortik sinüsünden çıkarlar.

2. Sol koroner arter 2 dal verir:

a) Sol Anterior İnen Koroner Arter (Left Anterior Desendan, LAD)

Sol koroner arter kalbin % 60'ına yakın bölümünü beslemektedir. Sol anterior inen koroner arterin sol ventriküle verdiği yan dallar diagonal dallar adını alır. Ayrıca LAD birçok septal perforatör dal ile interventriküler septumun ön 2/3'ünü ve apikal kısmını besler. Sol anterior inen koroner arterin seyri interventriküler septum düzlemini takip eder (28).

b) Sirkümfleks Koroner Arter

Sirkümfleks koroner arter (Cx) atriyoventriküler oyukta seyreder. Seyri boyunca sol ventriküle çeşitli dallar verir. Sol Cx'in takip eden dalları gidiş seyirlerine göre lateral ya da posteriyor dal olarak isimlendirilirler. Bu dal yaklaşık % 10 olguda posteriyor interventriküler oluktan geçerek atriyoventriküler düğümü besleyen posteriyor descending dalı verir (29).

2. Sağ Koroner Arter

Sağ koroner arter; atriyoventriküler dal, atrial dallar, akut marjinal dal ve anterior ventriküler dalları verir. Sol ventrikülün inferior yüzeyindedir ve genellikle seyirleri hafif aşağı doğrudur (28).

Normal insan kalbinde ana koroner arterleri birbirine bağlayan çok sayıda kollateral damar vardır. Normal ya da hafif KAH bulunan kişilerde kollateral kanalların çoğu küçük olduğundan ve yalnızca zayıf akım taşıdıklarından koroner anjiyografide görülmezler; kollateral damarların görülebilir olması için koroner arterin % 99 ya da % 100 tıkalı olması gerekir. Koroner kollateral dolaşım, koroner arter hastalıklarında iskemik bölgeye kan sunumunun önemli bir kaynağıdır (30).

1.1.2.2. Koroner Kan Akımı

Koroner dolaşımın amacı, miyokarda oksijen ve kasılması için gerekli maddeleri sağlamak ve kasılma sonrası miyokarda oluşan metabolik yıkım ürünlerini uzaklaştırmaktır. Koroner kan akımını olumsuz yönde etkileyerek miyokardın oksijen ihtiyacının karşılanamamasına sebep olan pek çok durumun başında koroner arter hastalıkları gelir. Koroner arterlerde büyüyen aterosklerotik plaklar lümen çapını önemli ölçüde daraltabilir. Eğer lümeninde % 75'ten daha fazla daralma varsa, miyokardın oksijen gereksinimi, kan akımında ölçülü bir artış olsa dahi karşılanamaz hale gelir ve miyokard iskemisi ile sonuçlanır (7).

1.1.3. Koroner Arter Hastalığında Koroner Anjiyografi

Koroner anjiyografi; koroner arterlerde aterosklerotik hastalık olup olmadığını anatomik olarak gösteren, tedavi çeşidinin planlanmasında ve uygulanmasında kullanılan en güvenilir yöntemdir. Femoral, brakial ya da radyal arterden uygulanır (31). Koroner arter stenozunun belirlenmesinde koroner anjiyografi altın standarttır (32). Koroner anjiyografi, semptomlar medikal tedavi ile yeterince kontrol edilemediğinde, kesin tanı gerektiğinde ya da non-invaziv test

sonuçları prognozun kötü olduğuna işaret ettiğinde yapılmalıdır. İnvaziv bir işlem olan koroner anjiyografi az da olsa komplikasyon riski taşır (33). İlk kez 1959 yılında Dr. Mason Sones ve arkadaşları tarafından yapılmış olup bu tarihten sonra koroner aterosklerozun tanısında yeni gelişen pek çok yonteme rağmen yerini korumuştur. Koroner anjiyografi periferik bir arterden yerleştirilen kateterin, koroner arterin orjinine kadar ilerletilmesi ve kateterin içerisinde verilen radyopak maddelerle X-ray altında koroner arter lümen anatomisinin radyografik olarak görüntülenmesi yöntemidir. Koroner anjiyografide tespit edilen lezyonların değerlendirilmesi, hastanın semptomları ve egzersiz testi gibi kardiyak tetkiklerin ışığında operatörün tecrübesine göre subjektif olarak yapılmaktadır (1).

1.1.4. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri

Koroner arter hastalığı risk faktörlerinin belirlenmesi, KAH tedavisi için büyük önem taşır. Koroner arter hastalığı risk faktörleri ilk olarak Framingham kalp araştırmasında belirlenmiş ve daha sonra birçok araştırma tarafından doğrulanmıştır (34). Koroner arter hastalıkları üzerine yapılan etyolojik çalışmalarda, birçok risk faktörünün bulunduğu, ancak bunların hiçbirinin tek başına hastalığın patogenezi açıklamakta yeterli olmadığı gösterilmiştir. Varlığı kesinleşen kanıtlar içinde karşımıza çıkan temel sorun aterosklerozdur. Yaş, erkek cinsiyet, aile öyküsü, HT, hiperkolesterolemi, HDL düzeyinin düşüklüğü ve sigara gibi klasik risk faktörleri vardır (35). Bu risk faktörlerinin kontrol altına alınmasının KAH tedavisi için yeterli olmaması başka risk faktörlerinin olabileceğini düşünmeye neden olmuştur. Yapılan araştırmalarda yeni risk faktörleri olarak hsCRP, fibrinojen, homosistein, lipoprotein (a), küçük düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) partikül boyutu; potansiyel risk faktörleri olarak da lipoprotein bağlantılı fosfolipaz A2 (LP-PLA2), asimetric dimetil-arjinin (ADMA), B tipi natriüretik peptit (BNP), miyeloperoksidaz, oksidatif stres ölçümleri ve aday gen polimorfizmleri belirtilmiştir. Bir risk faktörünün yarattığı etki, sıklıkla göreceli risk olarak tanımlanan, KAH ile olan ilişkisinin gücüne ve popülasyondaki prevalansına bağlıdır (21).

Ulusal Kolesterol Eğitim Programının (NCEP) III. yetişkin tedavi paneli (ATP III) 2001 yılında yayınlanmıştır. Burada KAH risk faktörleri şöyle sınıflandırılmıştır (36):

1) Lipid risk faktörleri (LDL, HDL düzeyinin düşüklüğü, aterojenik dislipidemi)

2) Lipid dışı risk faktörleri:

A) Modifiye edilebilir risk faktörleri

- Hipertansiyon
- Diabetes mellitus ve insülin direnci
- Obezite ve metabolik sendrom
- Sigara kullanımı
- Sedanter yaşam
- Aterojenik diyet
- Hemostatik durumlar

B) Modifiye edilemeyen risk faktörleri

- Yaş
- Erkek cinsiyet
- Ailede erken KAH öyküsü

3) Yeni risk faktörleri

- Lipoprotein (a)
- Sialik asit
- Fibrinojen
- Homosistein
- Diğerleri (Plazminojen Aktivatör İnhibitörü -1 (PAI-1), Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF- α), Açlık ile uyarılmış adipoz faktör (FIAF))

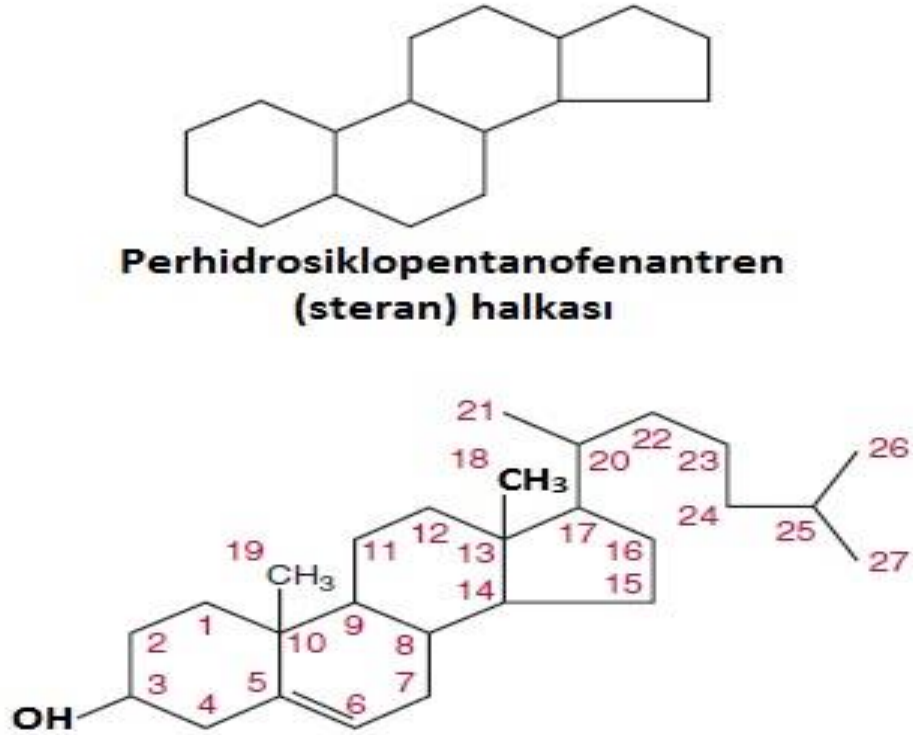
1.1.4.1. Lipid Risk Faktörleri

Serum total kolesterol ve LDL yüksekliği, KAH risk faktörleri arasında önemli bir yere sahiptir. Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyona uğradıktan sonra daha toksik hale gelir ve aterosklerozun gelişiminde ve ilerlemesinde rol alır (37). Antiaterojenik özellikteki HDL ise, aterosklerotik lezyonlardan kolesterolün uzaklaştırılmasında rol alır. Bu yüzden yüksek plazma HDL düzeyi ile kardiyovasküler hastalık riski ters orantılıdır (38). Ayrıca HDL, LDL oksidasyonunu ve birikimini inhibe eder. Klinik gözlemler, HDL düzeyindeki 1 mg/dL'lik bir artışın, KAH riskini % 2-4 oranında azalttığını göstermektedir (39). Koroner kalp hastalığı için düşük (<40 mg/dL) HDL düzeylerinin bir risk faktörü, buna karşılık yüksek (>60 mg/dL) HDL düzeylerinin ise koruyucu bir faktör olduğu kılavuzlarda vurgulanmıştır (36). Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri

çalışmasında ise, Türk erişkinlerinin HDL düzeyinin batı toplumlarına göre % 20 kadar düşük olduğu saptanmıştır. Bu düşüklüğün; kalıtsal faktörler, sigara kullanımı, alkollü içecek tüketiminin azlığı, fiziksel inaktivite, abdominal obezite ve hiperinsülinemiye bağlı olduğu düşünülmektedir. Koroner arter hastalığı olan ve çoklu risk faktörleri eşlik eden çok yüksek riskli hastaların tedavisinde LDL düzeyinin 70 mg/dL altında olması hedeflenir (40).

1.1.4.1.1. Kolesterol

Yapısında perhidrosiklopentanofenantrén halkası içeren 27 karbonlu kolesterol hücre zarlarının oluşumu ve stabilizasyonunun yanı sıra seks hormonları, kortikosteroidler ve D vitamini gibi sterol türevlerinin sentezinde rol oynayan önemli bir moleküldür (Şekil 2).

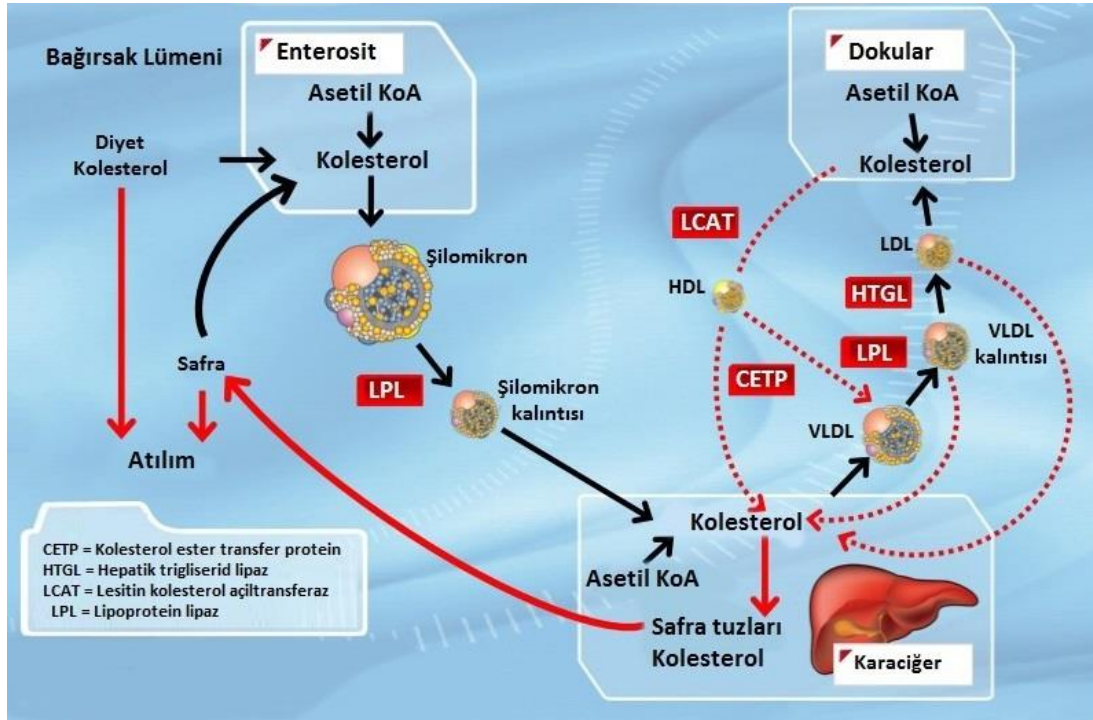


Şekil 2. Kolesterolün yapısı (35).

Kolesterol sentezinin büyük bölümü karaciğer hücrelerinde görülmekte olup bağırsak, böbreküstü bezi ve gonadlar da önemli miktarda kolesterol üretmektedir. Tüm vücutta yaygın olmasına karşın, özellikle merkezi sinir sisteminde ve beyin myelin içeren yapılarında fazla miktarda bulunur. Dolayısıyla vücuttaki hemen

hemen tüm hücrelerde bulunduğu için hücrelere sürekli olarak kolesterol sağlanması kritik önem taşır (35).

Lipoproteinlerin plazmadaki kontrolünün önemli bir faktörü olan kolesterol başlıca iki kaynaktan sağlanır. Bunlardan birincisi diyetle alınan kolesterol olan eksojen kolesterol, diğeri öncelikle karaciğerde ve ince bağırsaklarda üretilen endojen kolesteroldür. Diyetteki lipidler intestinal lümen içerisinde pankreatik lipazla hidrolize edilir ve safra asitleri ile emülsifiye edilerek miçelleri oluştururlar (41). Gıdalarla alınan kolesterol ya serbest halde ya da yağ asitleri ile esterleşmiş haldedir. Esterleşmiş kolesterol ince bağırsak lümeninde pankreatik kolesterol esteraz enzimi tarafından hidroliz edilir, serbest kolesterol ve yağ asitlerine parçalanır (35).



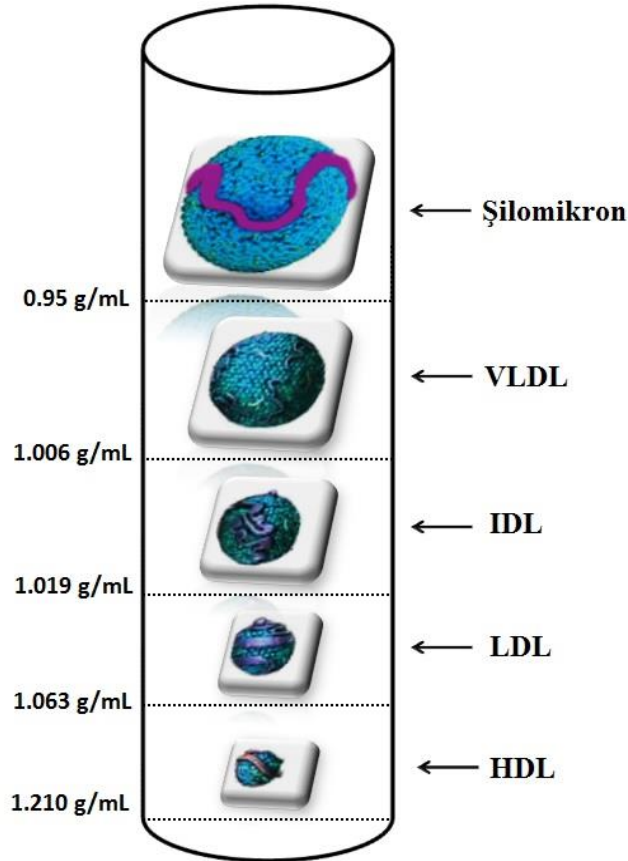
Şekil 3. Kolesterol transportu ve metabolizması (42).

Serbest kolesterol ince bağırsak tarafından emilir. Kandaki kolesterol düzeyini, sadece diyet değil aynı zamanda vücutta üretilen kolesterol de etkiler. Kolesterol ve kolesterol esterleri kanda lipoproteinler içinde taşınır (Şekil 3). Kolesterol dengesinin bozulması sonucunda dokularda, özellikle de damarların endotel tabakasında kademeli olarak kolesterol birikimi gerçekleşir. Bu birikim neticesinde damarlarda plak oluşumuna bağlı daralma ve KAH riskinde artış görülmektedir (43).

1.1.4.1.2. Lipoproteinler

Lipoproteinler; diyetteki kolesterol, uzun zincirli yağ asitleri ve yağda eriyen vitaminlerin absorpsiyonunda; trigliserid, kolesterol ve yağda eriyen vitaminlerin karaciğerden perifere transportu ve kolesterolün periferik dokulardan karaciğere transportunda önemli bir rol oynayan lipid ve protein kompleksleridir (41). Bu partiküllerin sentez, yıkım ve plazmadan uzaklaştırılmaları sabit bir denge durumundadır. Lipoproteinler; yoğunlukları, boyutları, lipid ve apolipoprotein içeriklerine göre 5 sınıfa ayrılırlar (Şekil 4) (44):

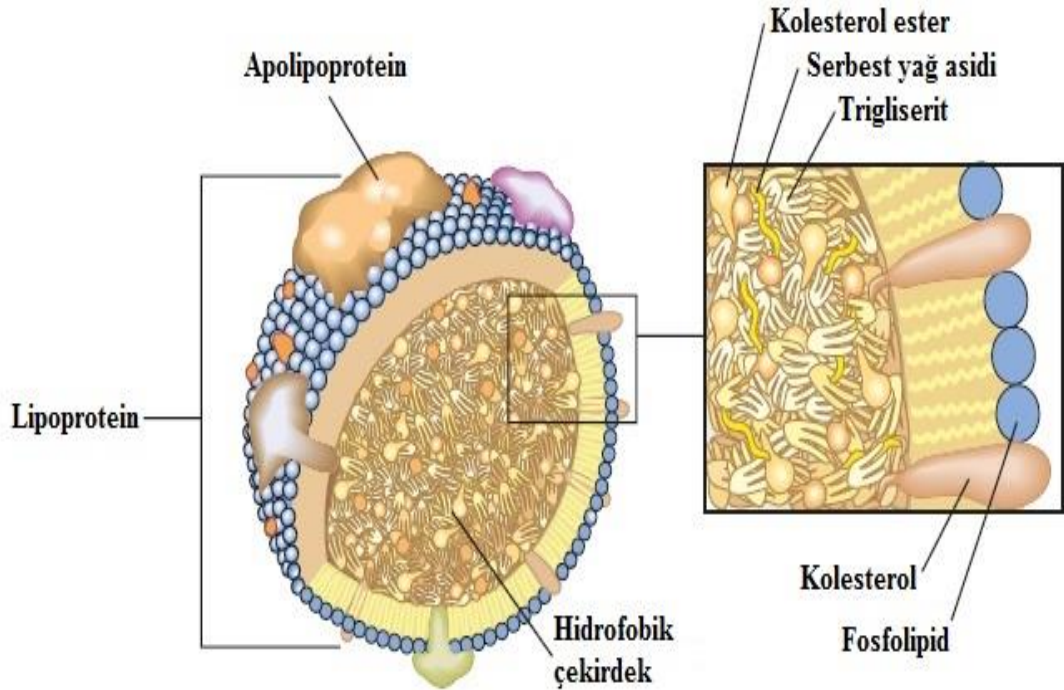
- Şilomikronlar
- Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL)
- Orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL)
- Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL)
- Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL)



Şekil 4. Lipoproteinlerin yoğunluklarına göre ayrılması (35).

Yoğunluğu 1006 g/mL olarak kabul edilen plazmaya potasyum bromür eklenerek yoğunluğu 1063 g/mL'ye getirilip 26°C'de ultrasantrifüj edildiği zaman en hızlı yüzen lipoprotein taneciği, yapısında en çok triaçilgliserol içeren en düşük yoğunluklu taneciktir. Lipoprotein fraksiyonlarını birbirinden ayırmak için ultrasantrifüj işlemi tekrarlanarak uygulanır. Açlıkta alınan serum ya da plazmadaki lipoproteinler dansiteye göre sıralandığında üst tabakadan alt tabakaya doğru VLDL, LDL ve HDL şeklinde sıralanır. Toklukta alınan serum ya da plazma bir gece buzdolabında bekletildiğinde, şilomikronlar yoğunluklarının düşük olmasından dolayı plazmanın yüzeyinde krema görünümünde bir tabaka oluşturur. Lipoprotein elektroforezi uygulandığı zaman sıralama başlangıç noktasına göre şilomikron, LDL, VLDL ve HDL şeklinde değişmektedir. Şilomikronlar boyut açısından en büyük ve yoğunluğu en az olan lipoproteinler iken, HDL en küçük ve en yoğun lipoproteinlerdir (45).

Lipoprotein partikülleri küre şeklindedirler; merkezde trigliseridlerin ve kolesterol esterlerinin hidrofobik lifleri, dış yüzde ise proteinlerin, fosfolipidlerin ve kolesterolün hidrofilik kısımları yer alır (Şekil 5).



Şekil 5. Lipoproteinlerin yapısı (46).

Lipoproteinlerin protein bileşenleri apolipoprotein (Apo) olarak adlandırılır ve A, B, C, D ve E ile gösterilir. Apolipoproteinler hücre reseptörleri için tanıma bölgeleri sağlarlar ve lipoprotein metabolizmasında yer alan enzimlerin aktivatörü veya koenzimi olarak rol alırlar. Apolipoproteinlerin % 80'i karaciğerde, % 20'si ise ince bağırsak mukozasında sentezlenir.

Apolipoprotein A: Yüksek yoğunluklu lipoprotein yapısının yaklaşık % 90'ını Apo A-I ve Apo A-II oluşturmaktadır. Apolipoprotein A-I LCAT aktivatörü iken, Apo A-II LCAT inhibitörüdür. Apolipoprotein A-I hem karaciğer hem de bağırsakta sentezlenir. Apolipoprotein A-II ise karaciğerde sentezlenir. Yeni sekrete edilen şilomikronların majör, HDL'nin ise minör bileşeni olan Apo A-IV bağırsakta sentezlenir (47).

Apolipoprotein B: Apolipoprotein B-100 ve Apo B-48 şeklinde iki tipi vardır. Karaciğerde tarafından sentezlenen Apo B-100, en çok VLDL ve LDL'nin yapısında bulunur. Açlık durumunda plazmadaki Apo B'lerin çoğu Apo B-100'dür. İnce bağırsakta sentezlenen Apo B-48 şilomikronun majör Apo B bileşenidir. Hücreler lipoprotein partiküllerini Apo B'yi tanıyarak alırlar. Yüksek yoğunluklu lipoprotein hariç tüm lipoproteinler Apo B içerir. Yüksek yoğunluklu lipoprotein Apo B içermediği için dokular tarafından tanınmaz ve dokulara geçemez (35).

Apolipoprotein C: Apolipoprotein C-I, C-II ve C-III şeklinde üç alt tipi vardır. Başlıca HDL'nin yapısında bulunur. Apolipoprotein C-II lipoprotein lipazı aktive ederken, Apo C-III lipoprotein lipazı inhibe eder. Apolipoprotein C-III proinflamatuvar ve proaterojenik etkilere sahiptir (48).

Apolipoprotein D: Yüksek yoğunluklu lipoproteinden VLDL'ye kolesterol esterlerinin taşınmasını sağlar ve kolesterol ester transfer protein (CETP) olarak bilinir.

Apolipoprotein E: Tüm lipoproteinlerin yapısında bulunan Apo E başlıca karaciğerde sentezlenir ve dört alt tipi vardır. Apolipoprotein E-III ve E-IV karaciğer hücrelerince iyi tanınır. Şilomikron kalıntılarının kandan temizlenmesinde en önemli rolü Apo E'ler üstlenir. Apolipoprotein E-III en yaygın görülen Apo E alt tipidir (6).

Apolipoprotein F, Apo H, Apo J, Apo L ve Apo M lipoprotein metabolizmasındaki fonksiyonları henüz tam olarak belirlenememiş olan apolipoproteinlerdir (45).

1.1.4.1.2.1. Şilomikronlar

Şilomikronlar, lipoproteinlerin partikül çapı olarak en büyük ve yoğunluk olarak en az dansiteye sahip olan tipidir. Bağırsak mukoza hücreleri tarafından üretilen şilomikronların primer görevi eksojen lipidlerin bağırsaklardan hücrelere taşınmasıdır (43). Diyetteki kolesterol ve retinol enterosit içerisinde esterleştirilerek, sırasıyla kolesterol esterleri ve retinil esterleri oluşur. Uzun zincirli (>12 karbonlu) yağ asitleri trigliseridlere dahil edilir ve Apo B-48, kolesterol esterleri, retinil esterler, fosfolipidler ve kolesterol ile sarılarak şilomikronlar oluşturulur. Şilomikronların yapısında % 85 triaçilgliserol (TAG), % 5 kolesterol ve esteri, % 8 fosfolipid ve % 1-2 kadar protein bulunur (45). Yeni oluşan şilomikronlar intestinal lenf sistemine sekrete edilir ve sistemik dolaşıma direkt olarak katılarak karaciğere ulaşmadan önce periferik dokularda büyük oranda işlenirler. Şilomikronlara bağırsak hücrelerini terkederken eşlik eden ana apolipoprotein Apo B-48'dir. Sistemik dolaşıma giren öncü şilomikronlar Apo B-48'in yanı sıra Apo A-I ve Apo A-IV'e sahiptir. Plazmada HDL'den Apo C ve Apo E'yi alır ve HDL'ye bir miktar fosfolipid verirler. Böylece şilomikronlar olgun hale dönüşürler (26). Karaciğer dışı dokuların kapiller endotelinde bulunan ve Apo C-II ile aktiflenen lipoprotein lipaz ile şilomikronun triaçilgliserolleri hidroliz edilir (49). Açığa çıkan serbest yağ asitleri, miyositler veya adipositler tarafından alınarak ya okside edilir ya da yeniden esterleştirilir ve trigliserid olarak depolanır. Hidrofobik çekirdek hidrolize edildikçe ve partikül yüzeyindeki hidrofilik lipidler HDL'ye transfer edildikçe, şilomikron partikülün boyutu giderek küçülür. Sonuçta daha çok kolesterolden zengin küçük partiküller oluşur ve şilomikron artıkları olarak adlandırılır. Şilomikron artıkları, karaciğerde Apo E gerektiren bir işlemle hızla dolaşımdan uzaklaştırılır (41).

1.1.4.1.2.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

Çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), yapı ve bileşim olarak şilomikrona benzer, ancak boyut olarak şilomikrondan daha küçüktür. Şilomikrona göre daha az TAG, daha çok kolesterol, protein ve fosfolipid içerir. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein başlıca sentez yeri karaciğerdir ve esas fonksiyonu endojen olarak sentezlenen TAG'ın transportudur (45). Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler golgi aygıtında işlenir ve karaciğer tarafından direkt olarak kana Apo B-100 içeren olgunlaşmamış (nascent) VLDL partikülleri olarak salıverilirler (26). Dolaşımdaki

HDL'den Apo C-II ve Apo E edinmek zorundadırlar (43). Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, dolaşımında HDL'den kolesterol alır ve karşılığında HDL'ye TAG verir. Böylece VLDL'nin çekirdeği kolesterol esterlerinden zengin hale gelir. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein trigliseridleri başlıca uzun zincirli yağ asitlerinin esterleşmesinden oluşur. Dolaşımdaki VLDL'ler lipoprotein lipaz kataliziyle TAG içeriklerinin bir kısmını kaybederek VLDL artığı yani ara dansiteli lipoprotein (IDL) haline döner (41). Çok düşük yoğunluklu lipoprotein artığının önemli bir kısmı karaciğer tarafından LDL reseptörü yoluyla alınır. Geri kalan IDL ise hepatik lipaz ile yeniden yapılandırılarak LDL'ye dönüştürülür (26).

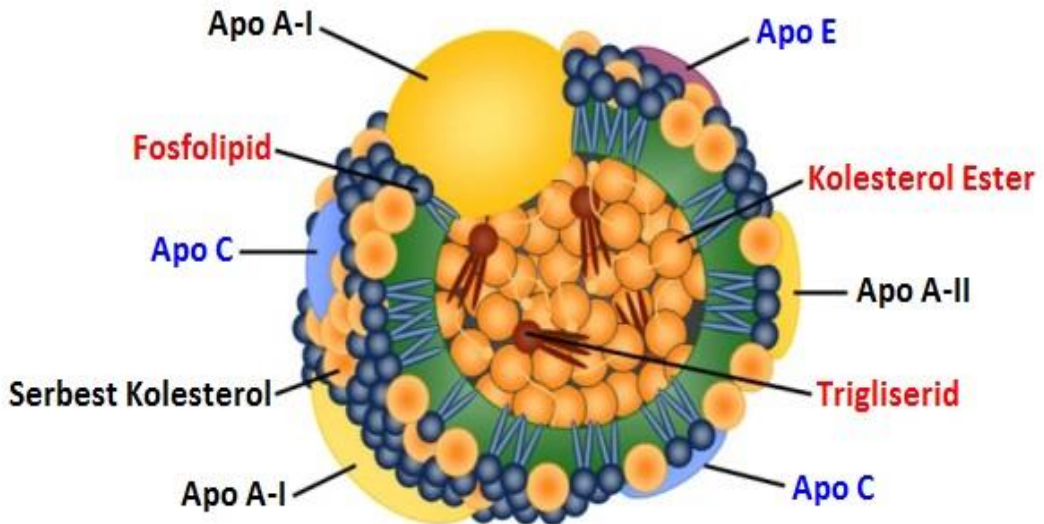
1.1.4.1.2.3. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

Düşük yoğunluklu lipoprotein, plazmanın kolesterol taşıyan başlıca lipoproteinidir. Düşük yoğunluklu lipoprotein partikülleri, VLDL'ye göre daha az TAG içerirler ve yüksek kolesterol ve kolesterol ester konsantrasyonlarına sahiptirler. Bireylerin çoğunda plazma kolesterolün yaklaşık % 70'ini LDL'nin içerisinde bulunan kolesterol oluşturur (41). Yaklaşık olarak % 20 protein ve % 80 oranında lipidden oluşmaktadır. Düşük yoğunluklu lipoprotein çekirdek kısmında kolesterol esterleri ve trigliseridler bulunur. Bu çekirdeği fosfolipidler ve serbest kolesterol çevreler. Yapısındaki esas lipid, kolesterol esterleridir. Düşük yoğunluklu lipoprotein partiküllerinin birincil görevi periferik dokulara kolesterol sağlamaktır (43). Dolaşımda bulunan her bir LDL partikülü, kolesterole ihtiyaç gösteren hücrelerde LDL reseptörleri denilen özgül yüzey reseptör proteinleri tarafından tanınan, Apo B-100'ü taşır (49). Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörleri hücre membranı üzerindeki girintilerde kümelenmiş negatif yüklü glikoproteinlerdir. Bu girintinin hücre içine bakan tarafı girintinin şeklini muhafaza eden klattrin proteini ile kaplıdır. Bağlanma sonrasında LDL-reseptör kompleksi endositoz ile hücre içerisine alınır. Veziküllerdeki lipoprotein kalıntıları lizozomlara transfer edilerek lizozomal enzimler tarafından yıkılırlar (43). Düşük yoğunluklu lipoproteinler hücre içine normal olması gereken miktarlarda LDL reseptörleri tarafından alındığında kolesterolün fazlası birikmez. Ancak aterosklerozda makrofajlara giren LDL, reseptör aracılığı ile kontrollü girmedikleri için böyle bir feed-back etkisi yoktur ve sınırsız olan bu birikim hücreyi köpük görünümüne çevirir. Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün major aterojenik faktör olduğunu ve LDL düzeyinin

düşürülmesinin koroner arter hastalığı riskini azalttığı bilinmektedir. Tedavide primer hedef NCEP ATP III'e göre LDL düzeyinin düşürülmesidir (36). Yapılan gözlemsel ve deneysel çalışmalar KAH ile LDL arasında güçlü pozitif bir ilişkinin olduğunu ortaya çıkardığından LDL düzeyinin düşürülmesi primer ve sekonder koruma için önemlidir (50). Mevcut KAH olanlarda NCEP ATP III, LDL düzeyinin 100 mg/dL ve altında tutulmasını önermektedir. Yapılan klinik çalışmalarda, LDL düzeylerini azaltmayı hedefleyen lipid düşürücü ilaçların kardiyovasküler olayları % 30-45 oranında azalttığı gösterilmiştir (51).

1.1.4.1.2.4. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

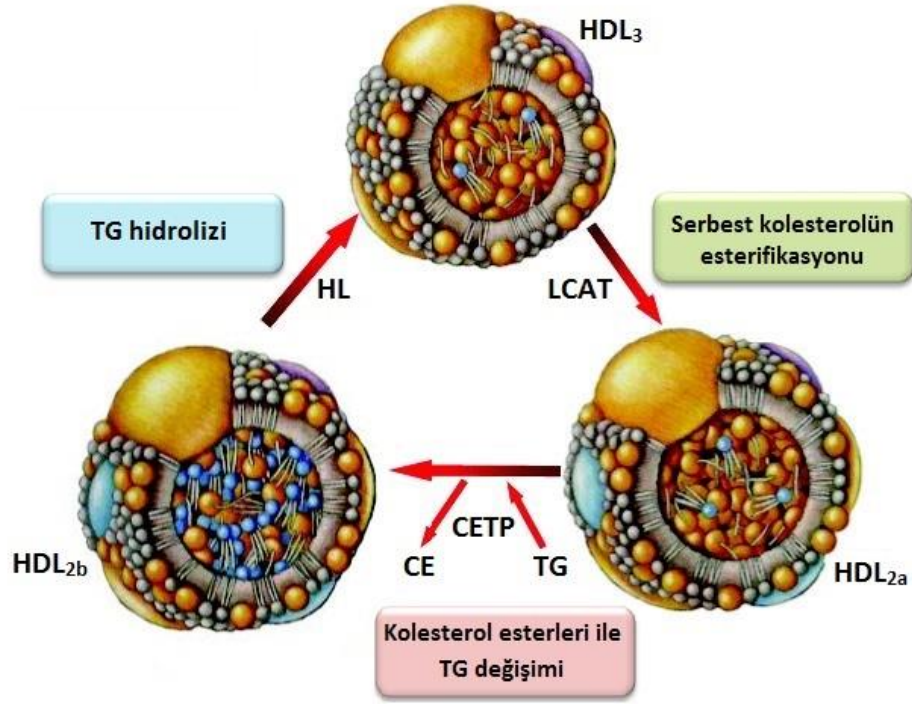
Lipoproteinlerin en yoğun ve en küçüğü olan HDL'nin ana işlevi periferik dokulardan aldığı kolesterolu karaciğere taşımaktır. Periferik hücrelerdeki kolesterol, tersine kolesterol transportu olarak adlandırılan HDL aracılı bir süreç ile periferik hücrelerin plazma membranlarından karaciğere taşınır (41). Yüksek yoğunluklu lipoprotein yapısının % 50'sini protein ve % 50'sini ise lipidler oluşturur. Yüksek yoğunluklu lipoproteinlerin merkezinde TAG ve kolesterol esterleri, dış yüzünde ise serbest kolesterol, fosfolipidler ve apolipoproteinler yer alır (Şekil 6) (52). Yüksek yoğunluklu lipoprotein, şilomikron ve VLDL metabolizmasında gerekli olan Apo C ve Apo E için bir depo görevi görür (53).



Şekil 6. HDL'nin yapısı (44).

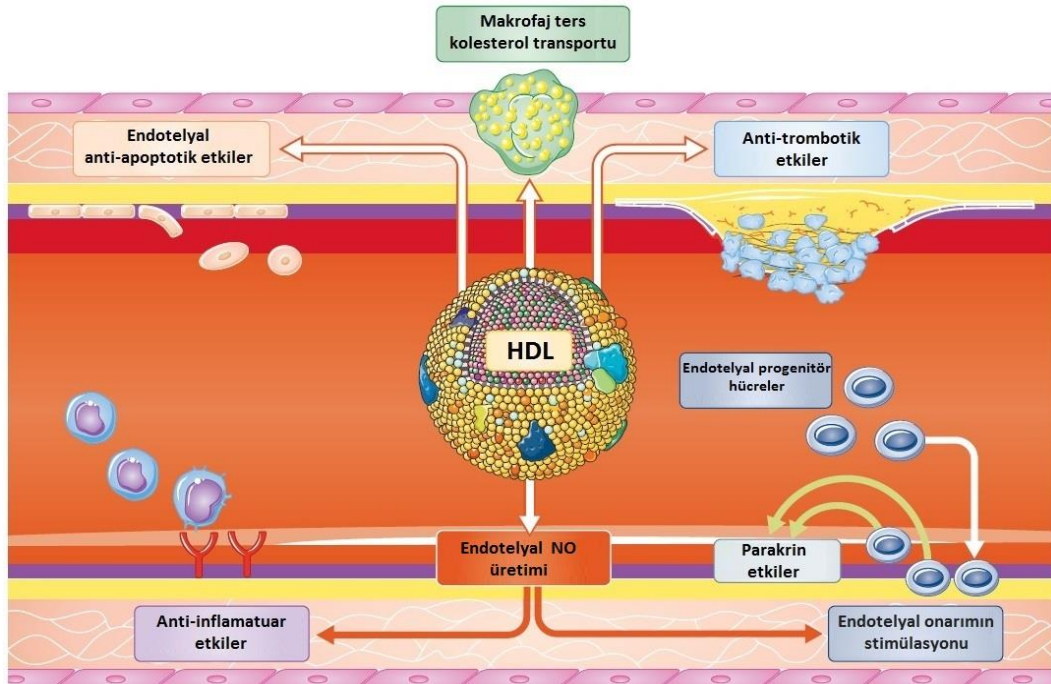
Yeni oluşan HDL partikülleri ince bağırsak ve karaciğerde sentezlenir. Bu yeni oluşan diskoid HDL partikülleri Apo A-I ve fosfolipidleri içerir ve hızla periferik dokulardan membran protein ATP-bağlayıcı kaset protein A1 (ABCA1) tarafından transport ile esterleşmemiş kolesteroller ve ilave fosfolipidleri alır (54). Kolesterol; HDL tarafından alındıktan hemen sonra bir plazma enzimi olan LCAT tarafından esterleştirilir. Lesitin kolesterol açıltransferaz, olgunlaşmamış HDL'lere bağlanır ve Apo A-I tarafından aktive edilir. Lesitin kolesterol açıltransferaz fosfotidilkolinin 2. karbonundaki yağ asidini kolesterole transfer eder. Bunun neticesinde oluşan hidrofobik kolesterol ester HDL'nin çekirdek kısmına tutulurken yine bu süreçte oluşan lizofosfatidilkolin albumine bağlanır (43).

Yüksek yoğunluklu lipoprotein dansite, boyut, yük ve Apo bileşenlerine göre alt tiplere ayrılır. Ultrasantrifügasyon sonucu HDL₂, HDL₃ ve çok yüksek yoğunluklu lipoprotein olarak, gradient jel elektroforezi ile de HDL_{2a}, HDL_{2b}, HDL_{3a}, HDL_{3b} ve HDL_{3c} olarak ayrılmaktadır (49). Yüksek yoğunluklu lipoprotein ufak ve küre şeklindeki ilk formu HDL₃ olarak adlandırılır. HDL₃ dokulardan kolesterol almaya devam eder, diğer lipoproteinlerden ayrılan yüzey bileşenlerini alarak büyür ve HDL_{2a} haline döner (55). Lipoprotein içinde kolesterol esterleri biriktikçe HDL partikülü sferoid hale gelir. Oluşan HDL_{2a}, CETP'nin aracılık ettiği bir reaksiyonla kolesterol esterlerini LDL ve VLDL'ye aktarır, yerine bu proteinlerden TAG alarak HDL_{2b} haline döner. Yüksek yoğunluklu lipoprotein ve diğer lipoproteinler kolesterol esterlerini karaciğere geri taşır. Karaciğer HDL_{2b}'i çöpçü reseptör B1 (SR-B1) aracılığıyla alır (56). Triaçilgliserolden zengin HDL_{2b}, karaciğer sinuzoidlerinde bulunan hepatik lipaz etkisiyle hidroliz olarak içindeki kolesterol esterleri, TAG ve fosfolipidlerin bir kısmını kaybeder ve HDL₃ haline döner (44). Yüksek yoğunluklu lipoprotein siklusu olarak adlandırılan bu süreç periferik dokulardan kolesterolün alınıp karaciğere götürülmesinde önem taşır. Kolesterolün periferik dokulardan HDL aracılığıyla karaciğere aktarılması işlemi tersine kolesterol transportu olarak adlandırılır (48). Karaciğer sinuzoidlerinde HDL_{2b}'nin parçalanması ile serbestleşen bir miktar Apo A-I az miktarda fosfolipid ve kolesterol ile birleşerek pre β -HDL oluşur. Pre β -HDL dansitesi en yoğun olan ve dokulardan kolesterol alımının indüklenmesinde en potent role sahip olan HDL formudur. Pre β -HDL aldıkça diskoid HDL'ye dönüşür (Şekil 7) (47).



Şekil 7. HDL₂ ve HDL₃ fraksiyonlarının birbirine dönüşümü (44).

Tersine kolesterol taşınmasının yanısıra HDL'nin anti-trombotik, anti-oksidan, anti-inflamatuvar ve endotelial onarımın stimülasyonu gibi etkilerinin olması ateroskleroz gelişimini önler (Şekil 8) (57).



Şekil 8. HDL'nin endoteldeki anti-aterojenik etkileri (47).

Yüksek yoğunluklu lipoprotein düzeyleri genetik ve çevresel faktörler tarafından farklı şekillerde etkilenmektedir. Çevresel faktörlerden; sigara, fiziksel aktivite azlığı, yüksek trigliserid içeren diyet HDL düzeylerini olumsuz yönde etkilemektedir (58).

Yüksek serum HDL düzeyi ile KAH riski ters orantılıdır (59). Trigliserid ve LDL'den bağımsız olarak HDL düzeyindeki her 1 mg/dL'lik artış, kardiyovasküler riskte % 2-3 azalmaya neden olur (60). Türk çocukları ve yetişkinleri diğer toplumlarla ile karşılaştırıldığında, düşük HDL düzeylerine sahip oldukları görülmektedir (61). Daha önce yapılan çalışmalar Türk toplumunda HDL düzeylerinin belirgin düşüklüğünün genetik yapıya dayanmakta olduğunu göstermektedir (58). Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeyinin 40 mg/dL'nin altında olması koroner arter hastalıkları için bir risk faktörü iken HDL düzeyinin 60 mg/dL'nin üstünde olması koruyucu bir faktördür (36).

1.1.4.1.3. Trigliseridler (Triaçilgliseroller)

Vücutta protein ve karbonhidrat metabolizması sırasında oluşan enerjinin fazlası, yağ asitlerinin sentezinde ve bunların triaçilgliserol (TAG) şeklinde yağ dokusu hücrelerinin sitozolünde depolanmasında kullanılmaktadır. Ayrıca diyetle alınan yağlardan serbestleşen yağ asitleri de enerjiye gereksinim olduğunda kullanılmak üzere TAG'a dönüştürülerek depolanır (45). Triaçilgliseroller, karaciğer ve yağ dokusunda, gliserol 3-fosfatın fosfatidik asit oluşturmak üzere yağ asitleri ile tepkimeye girdiği yolak aracılığıyla üretilir (26).

Diyetle alınan başlıca yağ türü TAG olup bitkisel ve hayvansal besinlerdeki yağ depolarından elde edilir. Lingual ve gastrik lipaz, kısa ve orta zincirli yağ asiti içeren TAG'ları parçalayarak lipid sindirimini midede başlatır. Diyet triaçilgliserollerinin sindirimi safra tuzları ve pankreas sekresyonlarının gerektirdiği bir işlemle başlıca ince bağırsakta gerçekleşmektedir. Kısa ve orta zincirli yağ asitleri, portal venöz dolaşıma serbest yağ asitleri halinde geçerler. Uzun zincirli yağ asitlerini, 2-monoaçilgliseroller ve diğer diyet lipidlerini barındıran miçeller, bağırsak epitel hücrelerinin içine geçerler. Miçellerdeki yağ asitleri yağ açıl koenzimA sentetaz tarafından aktive edilerek yağ açıl koenzimA haline döner (43). Bir yağ açıl koenzimA, 2-monoaçilgliserolle reaksiyona girer ve diaçilgliserol oluşur. Sonra diğer bir yağ açıl koenzimA, diaçilgliserolle reaksiyona girer ve TAG oluşur.

Endojen sentezlenen TAG'ların büyük bir kısmı VLDL bileşiminde, besinlerle alınan TAG'lar ise şilomikron formunda genel dolaşıma katılmaktadırlar. Lipoprotein lipaz etkisiyle VLDL ve şilomikronlardaki TAG'lardan serbestleşen yağ asitleri, yağ dokusu tarafından alındıktan sonra tekrar gliserollere esterleştirilerek TAG halinde depolanır (45).

Artmış TAG düzeyleri, serumda HDL düzeyinde azalmaya, IDL ve LDL düzeylerinde artışa yol açarak ateroskleroz ve KAH sıklığını artırır (25). Açlıkta trigliseridlerin en önemli temsilcisi VLDL, toklukta ise şilomikronlardır. Triaçilgliseroller normalde damar duvarında birikmez; ancak TAG düzeyleri yükseldikçe, esas olarak aterojenik olan ve TAG içeriği zengin olan lipoproteinler kanda artar (35).

1.1.4.2. Lipid Dışı Risk Faktörleri

1.1.4.2.1. Yaş

Yaşın aterosklerotik KAH için güçlü bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (62). Erkeklerde ≥ 45 yaş, kadınlarda ise ≥ 55 yaş üstünde olmak koroner arter hastalığı için risk faktörü olarak kabul edilmektedir (36).

1.1.4.2.2. Cinsiyet

Her iki cinste de majör risk faktörleri aynı olmasına rağmen kadınlarda; KAH semptomları ve aterosklerozun ciddi komplikasyonları erkeklere göre ortalama olarak yaklaşık 10 yıl daha geç yaşlarda görülmektedir (21). Koroner arter hastalığı riski 60 yaşından önce, erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir (63). Premenopozal dönemdeki kadınlarda KAH'lığına erkeklerden daha az oranda rastlanmaktadır. Bu bakımdan her ne kadar kadınlar şanslı olarak görülebilirlerse de, KAH şikayetleri ile başvuran bayanların yeterince araştırılmadıkları ve KAH tanısının erkeklere göre daha fazla atlandığı dikkat çekmektedir (64).

Premenopozal dönemde KAH'dan koruyan olası ajan östrojen olabilir ve menapozla birlikte serum LDL düzeyi artar. Kontraseptif ilaç alan veya erken menopozlu kadınlarda risk artmaktadır. Premenopozal dönemde kadında KAH riski erkeğe göre 1/7 iken, oran gittikçe yaklaşır ve 80 yaş itibarıyla eşit hale gelir (63). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda genç kadınlarda da mortalite ve morbidite sebepleri arasında koroner arter hastalıklarının giderek arttığı görülmektedir (65, 66).

Bunun sebebinin kadınlar arasında obezite, metabolik sendrom ve sigara içiciliğinin giderek artması olduğu düşünülmektedir (67).

1.1.4.2.3. Aile Öyküsü

Ailede birinci derece yakınların erken başlangıçlı koroner kalp hastalığı hikayesi ile KAH arasında ilişkinin olduğu bilinmektedir. Baba veya diğer birinci derece erkek akrabalarda 55 yaşından önce, anne veya diğer birinci derece kadın akrabalarda 65 yaşından önce erken koroner arter hastalığı gelişiminin olması, o kişide ateroskleroz gelişim riskini artırmaktadır (24).

1.1.4.2.4. Sigara Kullanımı

Sigara kullanımı KAH için önemli bir risk faktörüdür. Sigara içenlerde KAH'na bağlı ölüm riski, sigara içmeyenlere göre % 70 daha fazladır. Sigara dumanı 50'den fazlası kanserojen ajan olan 4000'den fazla kimyasal madde içerir. Bu kimyasal maddeler kardiyovasküler sistem için son derece zararlıdır (25). Sigara içenlerde KAH'ın sık görülmesinin yanı sıra, KAH olanlar sigara içmeye devam ettiğinde KAH mortalitesi yüksek seyretmektedir. Bu nedenle, sigara içiciliğinin kontrol altına alınması KAH'ın hem birincil hem de ikincil korumasında önemlidir.

Ülkemizde sigara kullanımı yüksek orandadır. Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri çalışmasının 1990 yılı taramasında erişkin erkeklerin % 59,4'ünün, kadınların % 18,9'unun sigara içtiği saptanmış; 2001-2002 taramasında ise sigara içiminde erkeklerde azalma, kadında artma eğilimi gözlenmiştir. Koroner arter hastalığı olanlarda aktif sigara içiciliğinin % 23,1 olduğu görülmüştür (68). Günde bir paket sigara kullanan insanlarda MI görülme sıklığı, kardiyovasküler hastalık nedeniyle ölüm ve diğer kardiyovasküler komplikasyonlara maruz kalma olasılığı, sigara kullanmayan insanlara göre iki kat fazladır (63). Sigara, KAH için risk faktörü olmasının yanı sıra koroner vazospazma yol açarak da akut MI'a neden olabilmektedir (69).

Sigara KAH riskini birkaç farklı mekanizma aracılığı ile artırır (21). Bu mekanizmalar şunlardır:

- a) Sigara içildikten sonra trombosit yaşam süresi kısalır ve dolaşımdaki trombosit agregatları, faktör V ve plazma fibrinojeni artır.
- b) Sigara, karbon monoksit nedeniyle dokulara ulaştırılan oksijen miktarını azaltır.
- c) Sigara, alfa adrenerjik stimülasyon ile koroner arterde konstriksiyona neden olur.

- d) Sigara, endotelde yarattığı hasar nedeniyle ateroskleroza hızlandırır.
- e) Sigara içenlerde; okside LDL gibi oksidasyon ürünlerinin miktarı artar ve HDL'nin koruyucu etkisi ortadan kalkar.

Koroner arter hastalığının önlenmesi açısından düşünüldüğünde sigara kullanımının bırakılması önemli ölçüde risk azalması sağlamaktadır (7).

1.1.4.2.5. Hipertansiyon

Hipertansiyonun gerek KAH gerekse diğer kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olduğu bilinmektedir (68). Koroner arter hastalığı için en yaygın değiştirilebilir risk faktörü hipertansiyondur (63). Bütün aterosklerotik kardiyovasküler olayların % 35'inden HT sorumludur. Koroner arter hastalığı, hipertansiflerde normotansiflere göre 2-3 kat daha fazladır (70). Sistolik kan basıncındaki her 20 mmHg'lık ve diyastolik kan basıncındaki her 10 mmHg'lık artış KAH ve inmeyle ilgili mortalite oranını iki kat arttırmaktadır (21).

Hipertansiyon; sigara kullanımı ve hiperlipidemi gibi risk faktörlerinden bağımsız olarak erken aterosklerotik hastalık riski ile ilişkilidir (23). Hipertansiyon; endotel disfonksiyonuna, endotel lipoprotein geçirgenliğinde artışa, oksidatif strese artışa neden olarak akut plak rüptürünü tetikleyerek miyokard duvar stresini ve miyokard oksijen ihtiyacını artırarak koroner olaylara etki eder. Ateroskleroza bağlı istenmeyen olaylar riski prehipertansif hastalarda bile görülebilmektedir. Hafif ve orta derecedeki yüksek kan basıncının tedavisi ile koroner arter olaylarında, inme ve mortalitede azalmanın sağlandığı bilinmektedir (62).

1.1.4.2.6. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus, en önemli kardiyovasküler risk faktörleri arasındadır (71). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde diyabet sıklığı hızla artmaktadır. Diyabet sıklığının giderek yükselmesinin en önemli nedenleri obezitenin artması, sedanter yaşam ve toplumun yaşlanmasıdır (68).

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı raporunda, DM bir koroner arter hastalığı eşdeğeri olarak kabul edilmekte ve bu şekilde en yüksek risk kategorisine girmektedir (36). Diyabetik popülasyonun yaklaşık % 55 kadarının KAH nedeni ile ölmesi muhtemeldir (25). Mortalite riski, diyabeti olan erkek hastalarda, diyabeti olmayanlara göre iki veya üç kat daha fazladır. Bu oran diyabetli kadınlarda üç veya beş kattır (31).

Diyabetin ateroskleroza yol açma mekanizmaları, düşük HDL, yüksek trigliserid, artmış IDL, artmış LDL, yüksek lipoprotein (a) konsantrasyonu, artmış lipoprotein oksidasyonu, artmış fibrinojen, artmış trombosit agregasyonu, artmış PAI-1, bozulmuş fibrinoliz, yüksek von Willebrand faktör düzeyleri, hiperinsülinemi ve bozulmuş endotel fonksiyonlarını içerir (72). Tip 2 diyabeti olan hastalarda KAH daha erken yaşta oluşmaktadır ve daha ciddi, daha yaygın ve daha çok damarı etkileyecek şekilde seyretmektedir (31). Koroner arterlerin diyabette daha yaygın olarak etkilendiği ve lezyonların daha distale kadar uzandığı hem patolojik hem de anjiyografik olarak gösterilmiştir. Tip 2 DM tanısı konulan hastaların çoğunda ateroskleroz başlangıcı veya ileri evrede aterosklerozun olduğu görülmektedir (21).

1.1.4.2.7. Obezite ve Fiziksel İnaktivite

Obezite dünya çapında bir epidemidir ve prevalansı düzenli bir şekilde artmaktadır. Türkiye’de obezite sıklığı % 32 bulunmuştur. Yani erişkin yaş grubunun yaklaşık üçte biri obezdir (68). Koroner arter hastalığının önemli bir risk faktörü olan obezite, hiperkolesterolemi, DM ve HT gibi diğer KAH risk faktörlerinin prevalansını artırmaktadır (15). Kilonun fazla olması artmış mortalite ve kardiyovasküler risk ile bağlantılıdır.

Vücuttaki fazla yağın kardiyovasküler sistemi etkileme mekanizmaları sadece, dislipidemi, hipertansiyon, obstrüktif uyku apnesi veya insülin direnci gibi risk faktörleri aracılığı ile vasküler sistem üzerindeki dolaylı etkilerden oluşmaz. Vücuttaki fazla yağ ayrıca dolaşımdaki inflamatuvar sitokinlerin düzeyini artırır. Obezite; fibrinojen, von Willebrand faktör, faktör VII ve VIII gibi pıhtılaşma faktörlerini ve PAI-1 düzeyini artırarak KAH gelişimine neden olabilmektedir. Kilo kaybı; HT, DM ve dislipidemi gibi KAH risk faktörleri ile ters ilişkilidir ve potansiyel ölüm oranını azaltır (71).

Fiziksel inaktivite koroner kalp hastalığı için bağımsız bir risk faktörüdür (63). Fiziksel aktivite, iskelet kasları tarafından oluşturulan ve normal bazal enerji harcanmasına ek olarak enerji harcanmasına neden olacak hareketler olarak tarif edilebilir. Fiziksel aktivite KAH gelişimine karşı koruma sağlar ve ayrıca HT, hiperkolesterolemi, insülin direnci ve obezite gibi diğer KAH risk faktörlerini olumlu yönde modifiye eder (25). Orta derecede düzenli egzersizin hsCRP ve fibrinojen düzeylerini azaltması ve lipidler üzerine olumlu etki göstermesinden dolayı KAH

riskini % 20-25 oranında azalttığı görülmüştür (73, 74). Bununla birlikte yoğun fiziksel aktivitenin, MI ve ani ölüm riskini artırdığı bilinmektedir. Bu yüzden kardiyak rehabilitasyon programlarına katılmış KAH olan hastalardaki egzersiz düzeyi aşamalı olarak artırılmalıdır. Uygun şekilde yürütülen bir egzersiz programı MI'dan sonra mortaliteyi % 27'ye varan oranlarda azaltabilir (21).

1.2. Ateroskleroz

Ateroskleroz; orta ve büyük çaplı arterlerin, intima ve mediasında önce endotel fonksiyon bozuklukları ile başlayıp daha sonra intima tabakasında lipid birikimi ile devam eden yaygın yapısal bir hastalıktır ve inflamasyon, skar ve kalsifikasyonla ilişkilidir (6). Elastik arterleri (aort, karotis ve iliak arterler gibi) ve büyük ve orta büyüklükteki musküler arterleri (yani, koroner ve popliteal arterler) etkileyen aterosklerotik damar hastalığı kardiyovasküler hastalıkların en önemli bölümünü oluşturur. Küçük çaplı arterler aterosklerozdan nadiren etkilenirler (34).

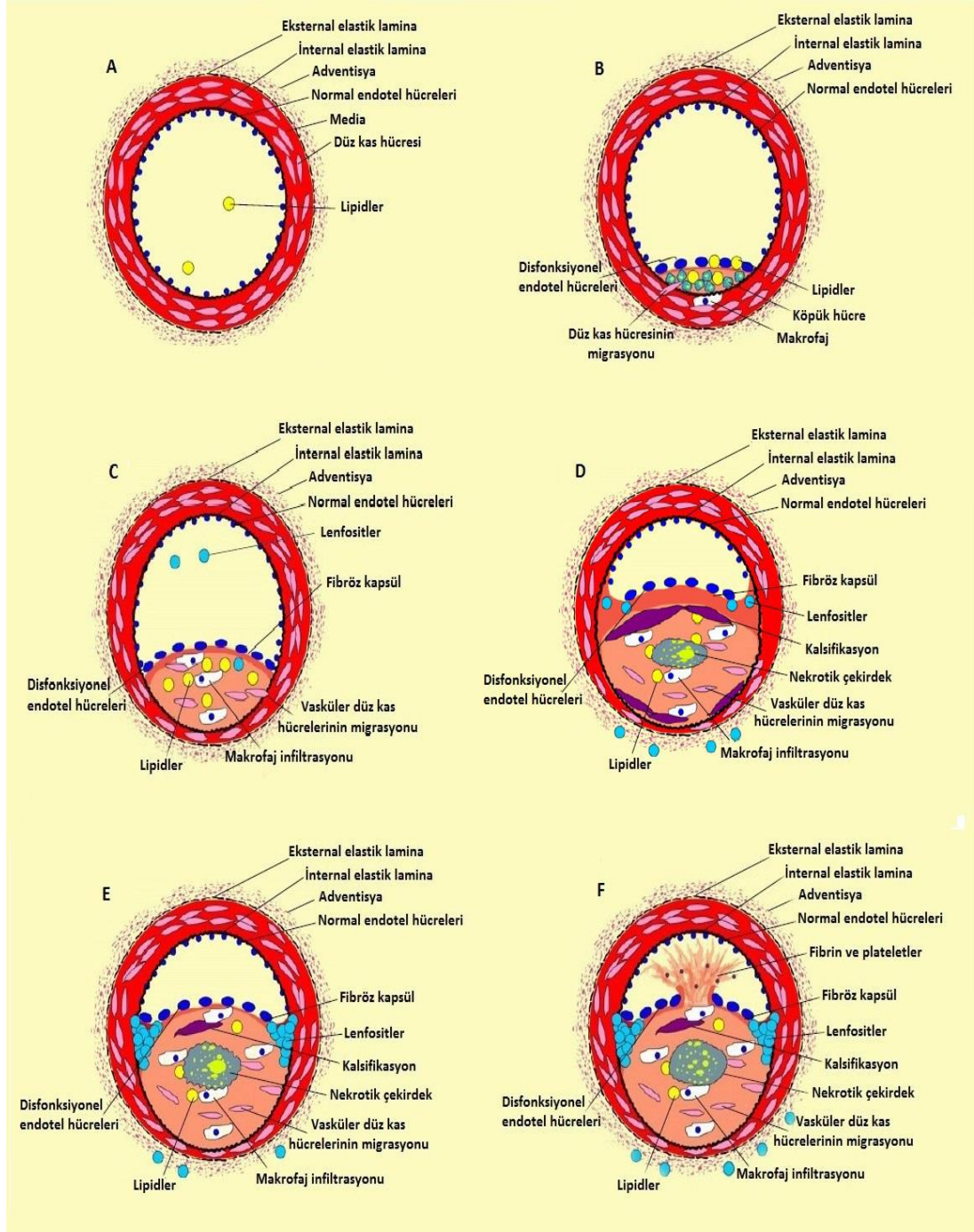
Aterosklerozun nedeni her ne kadar tam olarak bilinmiyorsa da sayısız risk faktörü tanımlanmıştır. Bunların en öne çıkanları ileri yaş, erkek cinsiyet, yüksek serum LDL düzeyi, HDL düşüklüğü, DM, HT, sigara kullanımı ve hiperlipidemi için kişisel özelliklerden bağımsız bir aile öyküsüdür (31). Ateroskleroz, dislipidemi, inflamasyon ve tromboz arasındaki kompleks ilişki sonucu oluşmaktadır (75). Hastalığın başlangıcında, ilerlemesinde ve aterosklerotik plağın destabilizasyonunda inflamasyon önemli bir rol oynar (17). Aterosklerotik süreç; intimal düz kas hücre proliferasyonu, monositler tarafından oluşan makrofaj ve T lenfositlerinin infiltrasyonu, kollajen, elastin lifleri, fibronektin ve proteoglikanlardan zengin bağ dokusu matriksi, hücreler içerisinde ve çevresindeki bağ dokusunda özellikle serbest kolesterol veya kolesterol esterleri biçiminde lipid depolanması ile karakterize bir süreçtir (76).

Yıllar içerisinde gelişen aterosklerotik plaklar koroner damarlarda darlıklara neden olarak veya plakların yırtılması sonucu akut koroner sendroma yol açarak kendisini göstermektedir (77). Bu nedenle aterosklerozun erken tespit edilip tedavi uygulanması halinde hastalığın başlangıcının geciktirilmesi, durdurulabilmesi hatta geriletilmesi önem kazanmaktadır (6). Ateroskleroz süresince orta ve büyük çaplı arterlerdeki plak oluşumunun erken aşamalarında lümen korunurken, plağın yaşına ve genişlemesine bağlı olarak bazen lümene doğru çıkıntı yapabilir. Plağın iç kısmını

lipidler, hücre artıkları, düz kas hücreleri, kollajen ve kalsiyum oluştururken, dış kısmı fibröz bir tabaka ile kaplıdır. Ateroskleroz arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikmesine karşı gelişen karmaşık bir inflamatuvar-fibroproliferatif yanıtıdır (78).

Ateroskleroz, kanda dolaşan başta LDL olmak üzere, IDL, VLDL ve şilomikron artıkları gibi lipoprotein partiküllerinin sağlam ve/veya disfonksiyone vasküler endoteli geçerek intima tabakasında birikmesi ve okside olması, özellikle okside-LDL'nin tetiklediği sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve kemoatraktan faktörlerin salgılanmasıyla başlar. İlk oluşum okside LDL'yi fagosite ederek köpük hücresine dönüşen makrofajların birikmesiyle oluşan yağ çizgileridir (6). Yağ çizgileri kan akımını etkilemez. Okside LDL tarafından hasara uğratılmış veya aktive edilmiş endotel hücreleri adezyon moleküllerini üreterek, dolaşımdaki monositlerin endotele bağlanmasından oluşan kritik basamağı başlatır. Endotel hücrelerine çekilen ve bağlanan monositler subintimaya yerleşir ve makrofajlara dönüşür. Subintimal makrofajlar okside LDL'leri fagosite ederler ve bu hücrelerde patolojik olarak görülebilen sitoplazmik damlacıklar oluşana kadar kolesterol birikebilir (34). Makrofaj sitoplazması içinde lipid damlacıklarının oluşumu ile erken evre aterosklerotik plakta görülen tipik köpüksü hücre meydana gelir (Şekil 9). Aterogenez uyarısı yüksek olmaya devam ederse köpüksü hücreler kolesterol depoları olarak subintimada kalır. Aterosklerotik plak içinde lipid birikiminin artışı, programlı hücre ölümü ve kalsifikasyon oluşumu devam etmektedir. Sitokinler, büyüme faktörleri ve oksidatif stres LDL oksidasyonundan bağımsız olarak aterosklerozun gelişimine katkıda bulunurlar (79).

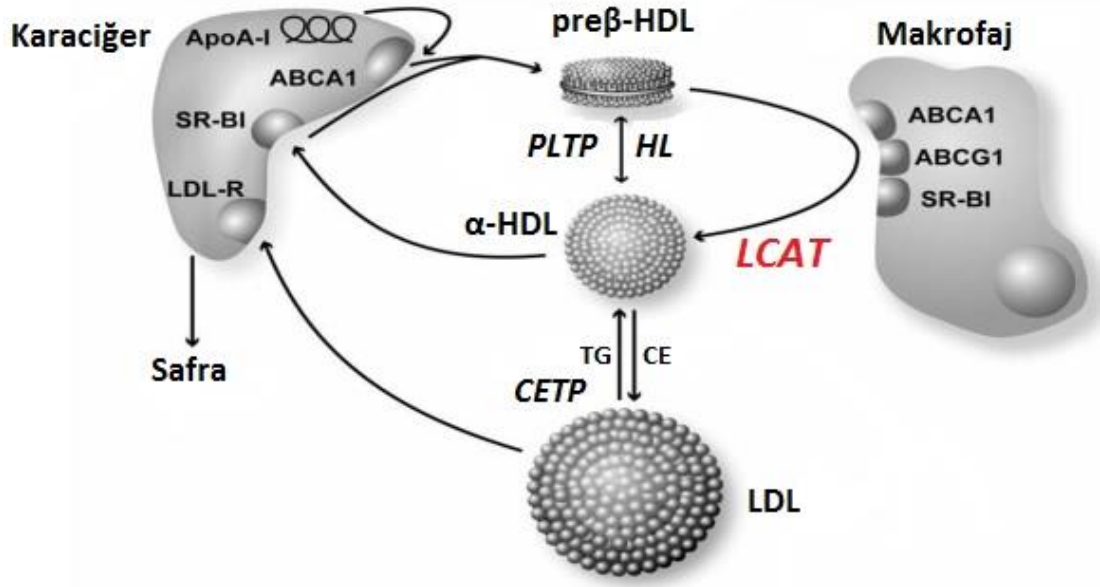
Ateromu kaplayan fibröz kapsülün kalınlığı ve ülserasyona yatkınlığı, hastanın klinik tablosunun ortaya çıkmasında en belirleyici unsurlardan birisidir. Fibröz kapsülün kalın olması ve yırtılmaması hastada sıklıkla akut koroner sendrom gelişimini engeller (34). Ancak plağın arter lümeninin % 50'sinden fazlasını tıkaması halinde, hastalarda iskemik semptomlar ortaya çıkacaktır. Fibröz kapsülün ince olması, aterosklerotik plağı kararsız hale getirecektir. Kapsüldeki yırtılma sonucu oluşabilecek trombus; kararsız anjina, MI, inme ve ani kardiyak ölüm gibi olaylara yol açabilmektedir (6).



Şekil 9. Aterosklerotik plak oluşumu (A) Endotel aktivasyonu ve inflamasyonun olmadığı dolaşımındaki lipid düzeyleri denge halinde bulunduğu normal damar. (B) Disfonksiyonel endotel hücrelerinde yağlı çizgilenmeler, intimada lipid birikimi ve köpük hücre oluşumu. (C) Fibröz kapsül, vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonu ve makrofaj infiltrasyonunu sonucu oluşan erken aterosklerotik plak. (D) Stabil aterosklerotik plak. (E) Nekrotik çekirdek, ince fibröz kapsül ve T lenfositlerinin yoğun infiltrasyonunun olduğu kararsız aterosklerotik plak. (F) Kararsız aterosklerotik plağın erozyonu (80).

1.3. Lesitin Kolesterol Açıltransferaz (LCAT)

Lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT; EC 2.3.1.43), kolesterol hemostazını sağlayan ve kanda taşınmasını düzenleyen anahtar enzimdir (81). Plazma kolesterol esterlerinin üretimi için gerekli bir enzim olan LCAT, ilk defa 1962 yılında Glomset tarafından tanımlanmıştır (82). Lesitin kolesterol açıltransferaz, HDL metabolizmasında yer alır ve bu enzim plazmadaki serbest kolesterolü, kolesterol esterlerine esterifiye eder (83). Kolesterol esterleri serbest kolesterolden daha hidrofobik olduğu için, lipoproteinlerdeki hidrofobik çekirdeğin içine göç eder (82). Lesitin kolesterol açıltransferaz, bu esterleşmiş kolesterolün HDL’de depolanmasını sağlar ve esterleşmiş kolesterolü merkeze taşıyarak HDL’nin çapını büyütür. Böylece periferik hücrelerdeki fazla kolesterol karaciğere taşınarak metabolize edilip safra ile atılır (Şekil 10). Buna ek olarak, lipoprotein metabolizmasının düzenlenmesinde ve aterosklerozda LCAT’ın rolü kanıtlanmıştır (84).

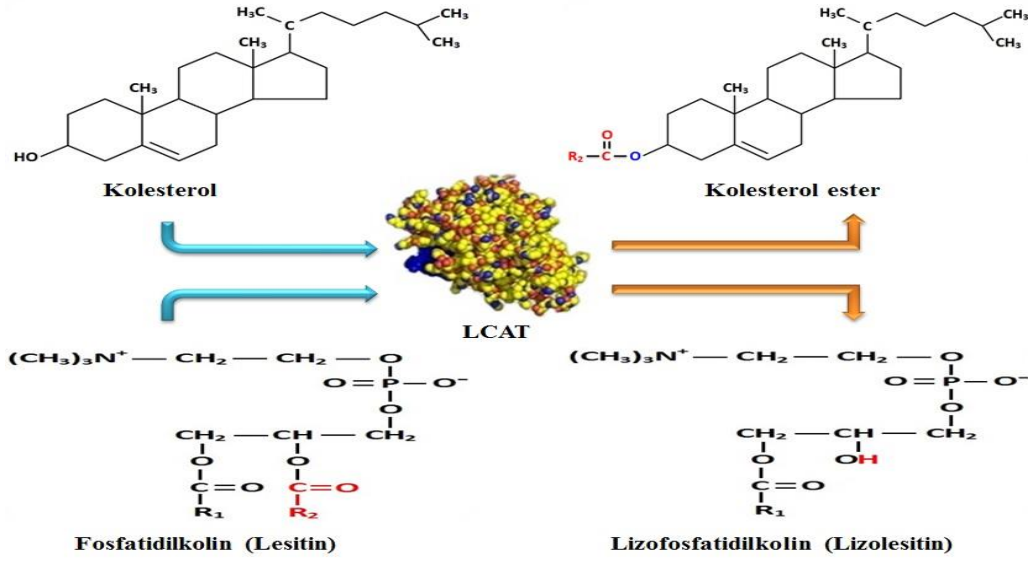


Şekil 10. LCAT reaksiyonunun diyagramı (82).

HL: Hepatik lipaz, PLTP: Fosfolipid transfer protein, CETP: Kolesterol ester transfer protein, CE: Kolesterol ester, ABCA1: ATP bağlayıcı kaset transporter A1, ABCG1: ATP bağlayıcı kaset transporter G1, SR-BI: Çöpü reseptör sınıf B tip I

Büyük bir bölümü karaciğer tarafından sentezlenen LCAT enzimi, etkisini plazmada gösterir (85). LCAT’ın substrat olarak HDL’yi tercih etmesinin sebebi, HDL’nin LCAT’ın en etkin aktivatörü olan Apo A-I’i barındırmasıdır (86). Lesitin kolesterol açıltransferazın en önemli fizyolojik reaksiyonu kolesterol ve

fosfatidilkolini (lesitin), kolesterol esteri ve lizofosfatidilkoline çevirmesidir (Şekil 11). Lesitin kolesterol açiltransferaz, lesitindeki gliserolün 2. karbonunda bağlı olan yağ asidini kolesterolün serbest 3β-OH grubuna transaçilasyonunu katalizler ve böylece lizolesitin ve kolesterol esterleri oluşur (87). Plazmadaki LCAT aktivitesinin birincil düzenleyicisi fosfatidilkolinin yağlı açil bileşimidir (88).



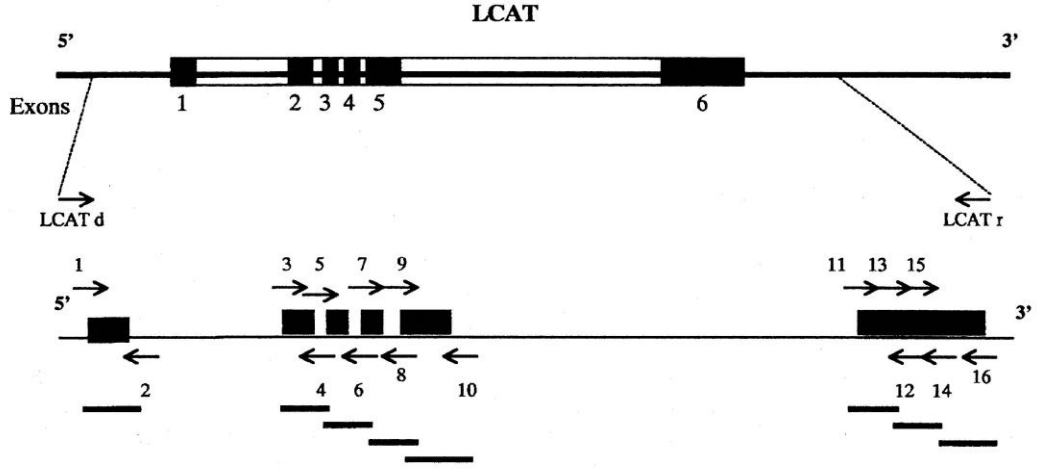
Şekil 11. LCAT tarafından katalizlenen reaksiyon (89).

Kan dolaşımı içindeki kolesterol esterlerinin büyük bir çoğunluğu bu enzimatik reaksiyon ile elde edilir. Lesitin kolesterol açiltransferaz, büyük küresel HDL'den küçük yeni HDL disklerinin olgunlaşmasını sağlayarak HDL'i aktifler. Bu nedenle LCAT eksikliği sonucunda HDL işlevselliğinin azaldığı kabul edilir (90). Lesitin kolesterol açiltransferaz özellikle HDL ile ilişkilidir ancak aynı zamanda LDL ve VLDL gibi Apo B içeren lipoproteinler ile de ilişkisi vardır (91). Esterifiye kolesterolün % 73'ü HDL'de, % 25'i LDL'de ve % 1'inden azı da VLDL'de bulunmaktadır. Apolipoprotein A-I, Apo A-IV ve Apo C-I, LCAT aktivitesini arttırmakta, Apo D ise enzimi stabilize etmektedir (45).

Lesitin kolesterol açiltransferaz, kolesterol geri taşınımında rol oynadığı ve çevre dokulardan HDL'ye kolesterol akımını konsantrasyon gradiyenti yaratarak sağladığı için lipoprotein metabolizmasının yanı sıra aterosklerozdan korunmada da önemli bir rol oynamaktadır (92, 93).

1.3.1. LCAT Geni ve Enzim Yapısı

Kromozom 16q22 üzerinde bulunan LCAT geni, 6 ekzon ve 5 intron bölgesinden oluşmuş 4.2 kilobaz büyüklüğünde bir genidir (Şekil 12) (94). Lesitin kolesterol açıltransferaz, 63 kDa ağırlığında polipeptid ağırlıklı bir glikoproteindir (95).



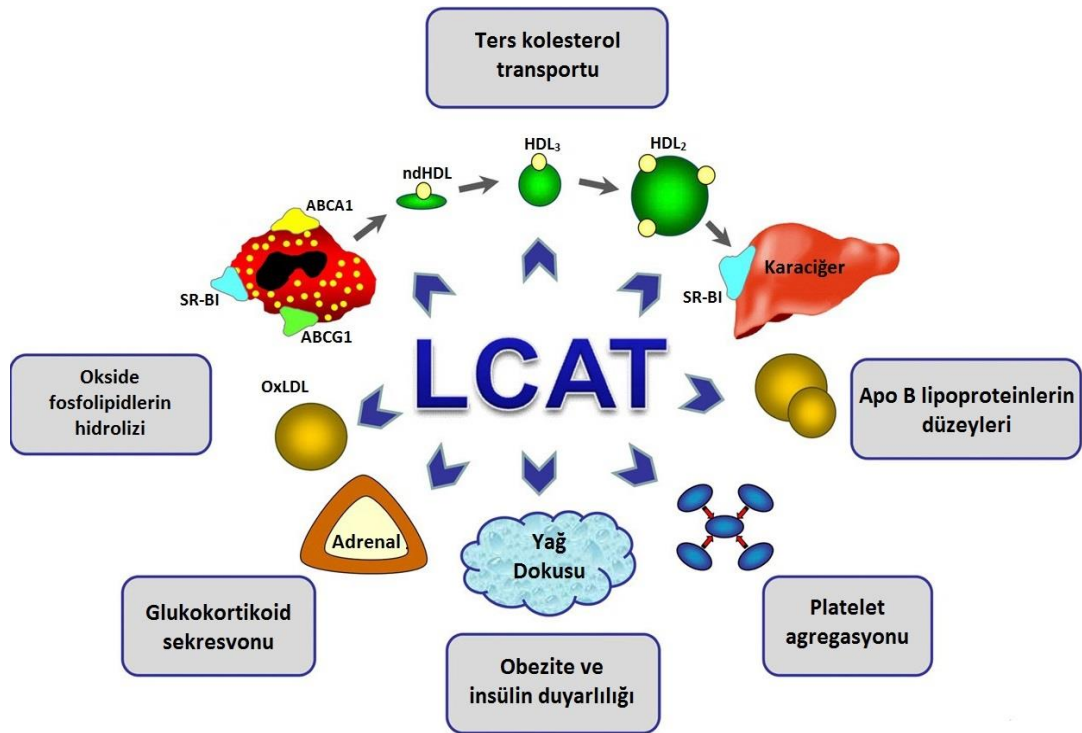
Şekil 12. LCAT gen yapısı (96).

Lesitin kolesterol açıltransferazın mRNA'sının büyük çoğunluğu karaciğerde olmasının yanında, az miktarlarda beyin ve testiste de bulunur (97). İnsan plazmasında kolesterol esterlerinin sentezinden sorumlu olan LCAT 416 amino asit içeren bir proteindir (98). LCAT karaciğer tarafından sentezlendikten sonra N- ve O-bağlı glikozilasyona uğrayarak enzimatik olarak aktif hale gelir (91). Lesitin kolesterol açıltransferaza eklenen glikan zincirlerin özel bir rolü tespit edilememiştir ancak LCAT aktivitesi için önemli olduğu düşünülmektedir (99). Lesitin kolesterol açıltransferaz kütesinin yaklaşık dörtte birini karbonhidrat grupları oluşturur (89). Enzim plazmaya salgılanır ve majör olarak aktivatör protein Apo A-I'i içeren HDL partiküllerine bağlanır. Lesitin kolesterol açıltransferazın plazma konsantrasyonu; yaş, cinsiyet, beslenme alışkanlığı ve sigara gibi faktörlerden çok az etkilenir (55). Lesitin kolesterol açıltransferaz enziminin hem Fosfolipaz A2 aktivitesi hem de açıltransferaz aktivitesi vardır (97).

1.3.2. LCAT ve Ateroskleroz

Ateroskleroz gelişiminden sorumlu faktörler arasında en önemlilerinden biri lipoprotein metabolizmasıyla ilgili bozukluklardır. Lipoproteinler arasında

ateroskleroza karşı koruyucu olduğu bilinen tek lipoprotein HDL'dir ve yapılan çeşitli araştırmalarda plazma HDL düzeyleri ile KAH görülme sıklığı arasında negatif bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (100). Yüksek yoğunluklu lipoproteinin ateroskleroza karşı koruyucu rolü, ters kolesterol taşınımı olarak adlandırılan ve fazla kolesterolü periferik dokulardan karaciğere geri taşıyan bir transport olayında yer almasından ileri gelmektedir (Şekil 13) (55). Ters kolesterol taşınımı birden fazla basamak içerir. Bunlar sırasıyla; serbest kolesterolün hücrelerden HDL'ye aktarımı, HDL'de serbest kolesterolün LCAT enzimi tarafından esterleştirilmesi ve ester kolesterolün CETP aracılığı ile Apo B içeren lipoproteinlere transferidir (100).



Şekil 13. KAH patogenezindeki LCAT fonksiyonları.

Yüksek yoğunluklu lipoprotein metabolizması dışında LCAT doğrudan veya dolaylı olarak ateroskleroz gelişimini etkileyebilecek diğer bazı fizyolojik süreçlere de etki eder. Bu süreçler, okside LDL'nin hidrolizi, adrenal steroidogenez, insülin duyarlılığı ve obeziteye karşı koruma ve platelet fonksiyonudur (55).

Lesitin kolesterol açıltransferaz, büyük küresel HDL'den küçük yeni HDL disklerinin olgunlaşmasını sağlayarak HDL'i aktifler (101). Lesitin kolesterol açıltransferaz sadece HDL'nin yapısını değiştirmekle kalmayıp kolesterol geri taşınımında rol alan diğer proteinlerle ilişkisini de etkilediği için önemlidir. Lesitin kolesterol açıltransferaz fonksiyonundaki bir kusur, ters kolesterol taşınımını

engellerek ateroskleroz gelişimini artırır. Bu nedenle, LCAT eksikliği olan hastalarda daha fazla ateroskleroz ve kardiyovasküler olayların olması beklenir (11). Lesitin kolesterol açıltransferazın diğer koruyucu özelliği LDL üzerinde okside fosfotidilkolini hidrolize ederek okside fosfotidilkolinin dolaşımdaki LDL partikülleri üzerinde birikmesini önleyerek makrofaj SRB'leri tarafından alınmasını önlemesidir. Anjiyografi ile belgelenmiş KAH olanlarda ve MI'dan sonra sağ kalan hastalarda LCAT aktivitesinin düşüklüğü çok belirgindir. Bu nedenle LCAT, ateroskleroz konusunda koruyucu hekimliğe yönelik üzerinde çalışılan bir moleküldür (14). Dolaşımdaki LCAT, HDL içindeki kolesterolün esterleştirmesinden ve HDL matürasyonundan sorumlu olduğundan artan LCAT aktivitesinin HDL düzeylerini artırdığı ve dislipidemi ve ateroskleroz üzerinde yararlı etki gösterdiği bilinmektedir (102).

1.3.3. LCAT Metabolizmasının Genetik Bozuklukları

İnsanlarda LCAT eksikliğinin 2 genetik formu tanımlanmıştır:

1. Tam eksiklik, klasik LCAT eksikliği veya familial LCAT eksikliği olarak adlandırılır.
2. Parsiyel eksiklik veya balık gözü hastalığı olarak adlandırılır.

Familial LCAT eksikliği, LCAT genindeki mutasyonlara bağlı olarak gelişen ve otozomal resesif geçiş gösteren bir hastalıktır (103). Lesitin kolesterol açıltransferaz karaciğerde sentezlenir ve lipoproteinlerle birlikte dolaştığı plazmaya sekrete edilir. Enzim, kolesterolün esterifikasyonuna aracılık ettiğinden, dolaşan lipoproteinlerdeki serbest kolesterol oranı önemli ölçüde artmıştır. Normal kolesterol esterifikasyonunun olmaması matür HDL oluşumunu önler (41). Familial LCAT eksikliği olan hastaların komplet HDL eksikliği ile başvurmalarının sebebi, LCAT eksikliği sonucu dolaşımdan nascent HDL'nin hızlı bir şekilde temizlenmesi ve olgun HDL oluşturmasının mümkün olmamasıdır (101). Familial LCAT eksikliğinde, LCAT'nin hem HDL üzerindeki α aktivitesi hem de LDL üzerindeki β aktivitesinin kaybolması sebebiyle LDL katabolizması da yavaşladığı için Apo B düzeyinin ve dolayısıyla LDL'in artışının prematür kardiyovasküler hastalığa sebep olduğu düşünülmektedir (103).

Balık gözü hastalığı, kısmi LCAT eksikliği olarak bilinmektedir. Vakalarda HDL düzeyi azalmış ve trigliserid düzeyleri artmıştır. Yüksek yoğunluklu

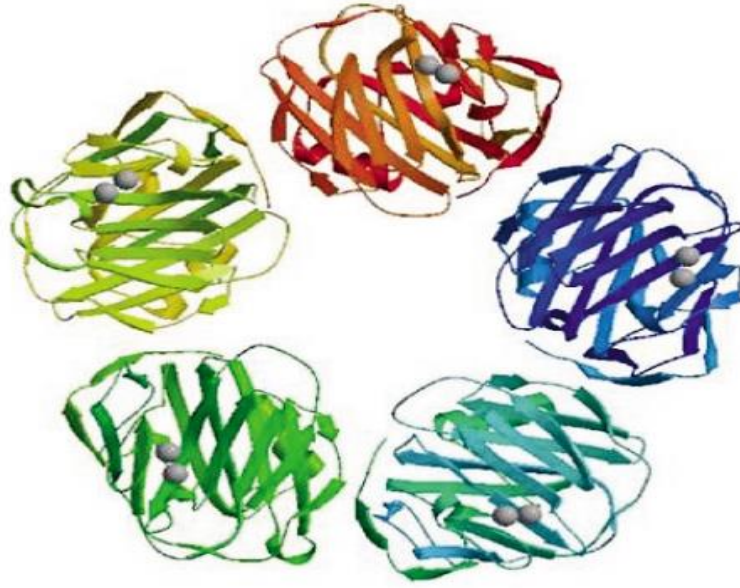
lipoproteininin kolesterol içeriği düşse de VLDL ve LDL'nin kolesterol içerikleri normaldir. Yani LCAT'nin HDL üzerindeki α aktivitesi bozulmuşken LDL üzerindeki β aktivitesi korunmuştur. LCAT'nin kısmi eksikliğinde ters kolesterol transportu Apo B içeren LDL ile sağlanır (104).

Her iki tipte de lenslerde serbest kolesterolün birikimine bağlı progresif korneal opasite, plazma HDL düzeyi düşüklüğü (<10 mg/dL) ve değişken derecede hipertrigliseridemi bulunur (41). Bu bulguların yanında progresif proteinüri ile karakterize familial LCAT eksikliğinde 4. ve 5. dekatta son dönem böbrek yetmezliği ve hemolitik anemi de görülebilir (103).

Lesitin kolesterol açıltransferaz geninde 60'dan fazla mutasyon tanımlanmıştır ve bu mutasyonlar familial LCAT eksikliği ve balık gözü hastalığı olmak üzere iki farklı klinik ve biyokimyasal fenotip ile sonuçlanmaktadır (105). Lesitin kolesterol açıltransferaz gen mutasyonu taşıyıcıları, hayat boyu düşük HDL düzeylerine sahiptirler (106). Lesitin kolesterol açıltransferaz genindeki mutasyonların çoğu 1/10000'den daha az sıklıkta görülmektedir (84). Lesitin kolesterol açıltransferaz gen mutasyonu taşıyıcıları HDL eksikliği nedeniyle, artmış KAH riskine sahiptirler (107). Bugüne kadar LCAT geninde sadece 4 tek nükleotid polimorfizmi (SNP) rapor edilmiştir. Bunlar 608C/T, 911T/C, 4886C/T, 511C/T'dir. Herbirinin teker teker frekansı % 10'dan azdır (84, 108).

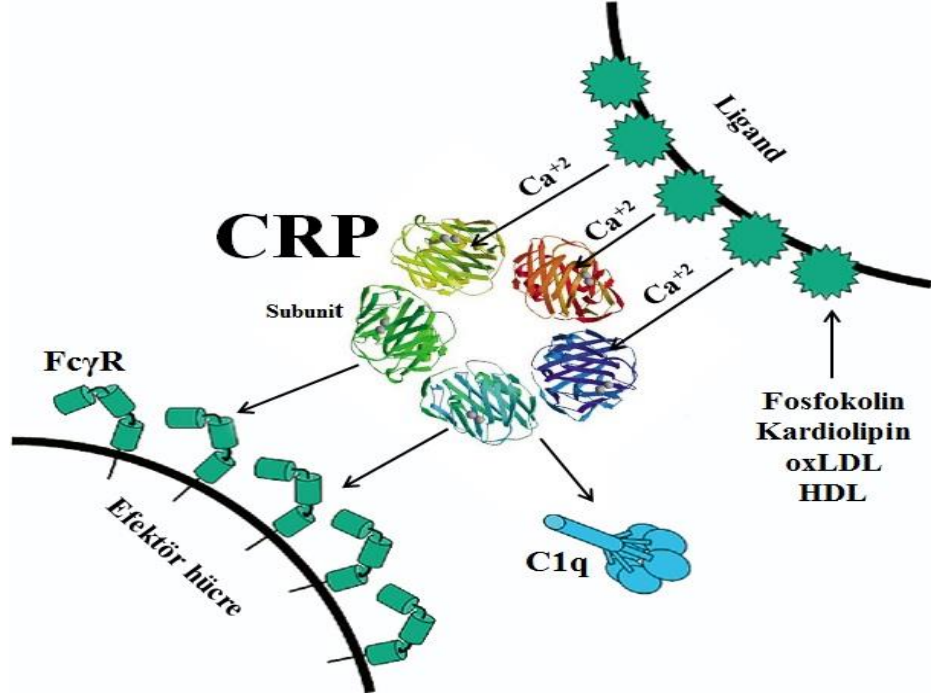
1.4. C Reaktif Protein

İlk defa 1930 yılında Tillet ve Francis tarafından akut hastalığı olan bireylerin serumlarında *S. pneumoniae*'nin hücre zarında C polisakkaridlerine bağlanabilen bir madde olarak gösterilmiştir (109). Daha sonra 1941'de bunun bir protein olduğu anlaşılmış ve C reaktif protein (CRP) adı verilmiştir (110). C reaktif proteinin temel biyolojik fonksiyonu, vücutta hasara uğramış hücre membranına ve nükleer materyale bağlanarak nekrotik ve apoptotik hücre enkazınının temizlenmesi için hedef teşkil etmesi ve patojenleri tanıyarak onların makrofajlar tarafından yok edilmesinin sağlamasıdır. C reaktif proteinin akut faz reaktanlarının pentraksin ailesine ait bir proteindir (111). Pentamerik yapıda bir protein olan CRP molekülü, her biri 206 aminoasit kalıntısı içeren beş eşit glikolize olmayan polipeptid alt ünitesinden oluşmaktadır ve molekül ağırlığı 118 kDa'dur (Şekil 14) (112).



Şekil 14. CRP'nin moleküler yapısı. Her bir protomerin ligand bağlayıcı yerindeki iki kalsiyum atomu ve lektin kıvrımlarını gösteren kristal yapı (113).

Hastalıkların büyük bir çoğunluğunda, dolaşımdaki CRP değerleri; akut faz cevabı gösteren diğer parametrelere göre alttaki inflamasyon veya doku hasarını daha doğru yansıtmaktadır. C reaktif protein; ısı, travma, enfeksiyon ve hipoksi gibi çeşitli inflamatuvar uyanlara yanıt olarak karaciğer tarafından sentez edilir. Sağlıklı bireylerde CRP'nin plazma düzeyleri 1 mg/L düzeyindedir (110). Karaciğerde yeni CRP sentezi tek bir uyarı sonrası hızla başlar, yaklaşık altı saatte serum düzeyleri 5 mg/L üzerine çıkar ve 48 saat sonra da en yüksek düzeye yükselir. Yapılan çalışmalarda, CRP'nin nötrofil adezyonunda, sitokin ve nitrik oksit (NO) üretiminde, aterosklerozun ilerlemesinde proaterojenik özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (114). C reaktif protein, nonspesifik bir akut faz reaktanı olup inflamasyonun en selektif belirtecidir. C reaktif proteinin en önemli fonksiyonu, kalsiyum iyonları varlığında fosforilkolin, fosfatidilkolin ve nükleik asitler gibi polianyonlara, kalsiyum iyonları yokluğunda ise histonlar gibi polikasyonlara bağlanabilmeleridir (115). C reaktif protein'e fosfokolinin bağlanmasına aracılık eden iki anahtar aminoasid fenilalanin ve glutamattır. C reaktif proteinin bilinen reseptörleri, Fc γ RI ve Fc γ RII'dir (116). C reaktif proteinin pro-aterojenik etkilerine çoğuna, aterosklerotik plaklardaki birçok hücre türünde tespit edilen Fc γ RIIA reseptörünün aracılık ettiği tahmin edilmektedir (Şekil 15) (117).



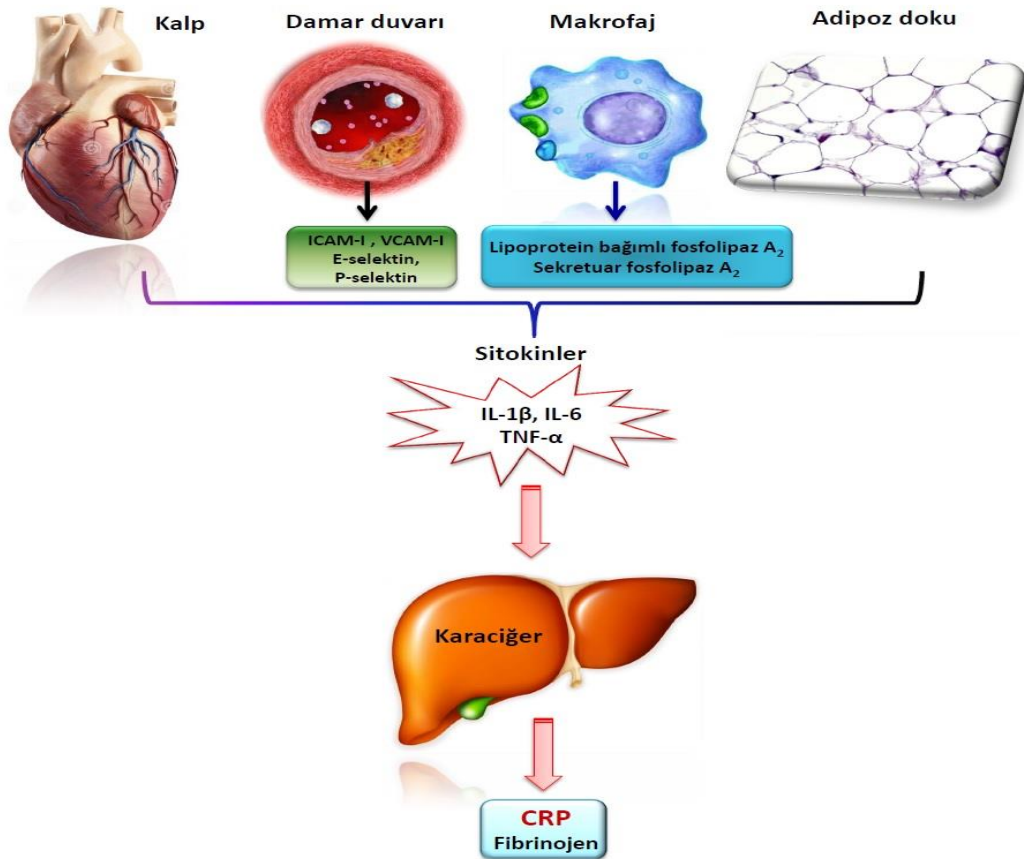
Şekil 15. Dolaşımdaki CRP ve reseptörünün yapısı (118).

C reaktif protein ve birçok akut faz protein genlerinin ekspresyonunu, STAT3 (signal transducer and activator of transcription-3) ve nükleer faktör kappaB proteinleri gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile IL-6 ve IL-1 β kontrol etmektedir. C reaktif protein okside olmuş LDL'yi fosfokoline bağlar, endotel hücrelerindeki adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır, makrofajlar içine LDL'nin alımını artırır, aortik endotel hücrelerinde endotelial NO sentaz ekspresyonu inhibe eder ve PAI-1 ekspresyonu ve aktivitesi artırır (115).

C reaktif proteinin akut faz proteini olarak diğer akut faz proteinlerinden farkları sentezinin erken uyarılması, yarı ömrünün kısa olması, artış miktarının 1000 kat olmasıdır. Bu farklar klinik kullanımda avantaj olarak değerlendirilmektedir (113). C reaktif proteinin başlıca fonksiyonlarından biri proteinleri tanıyarak, humoral veya hücrel savunmalarla ortadan kaldırmaktır. Bunu monosit nötrofil fagositozunu artırarak, hasarlı membran ve nekrotik hücreler ile çözünebilir çekirdek materyaline bağlanarak, kompleman aktivasyonu ve ekstrasellüler matriks proteinlerine bağlanarak gerçekleştirir. C reaktif protein, hızlı reaksiyona giren akut faz proteinlerinden biri olduğu için enfeksiyonun erken tanısında kullanılabilen bir belirteçtir. Bakteriyel enfeksiyonların uyarısı sonucu görülen CRP yüksekliği tek başına klinik belirtilerden daha spesifiktir (119).

C reaktif proteinin yarı ömrü 19 saat olup diüurnal varyasyon göstermemektedir (120). Endotelial hücrelerde, monositlerde, makrofajlarda, koroner arter düz kaslarında eksprese olan CRP lokal etkilidir. C reaktif proteinin lokal düzeyleri dolaşımdaki düzeylerinden daha yüksektir. Tüm yaş grupları ile kadın ve erkekler arasında ortalama CRP serum düzeyleri farklılık göstermemektedir (121).

C reaktif proteinin geni, 1. kromozomunda 1q21-1q23'te lokalize olup iki ekzon ve tek bir intron içermektedir (122). C reaktif proteinin ifadesi esas olarak transkripsiyonel seviyede düzenlenmekte ve ayrıca transkripsiyon sonrası mekanizmalar da önemli bir rol oynamaktadır. C reaktif protein hepatositler dışında nöronlarda, aterosklerotik plaklarda, monosit ve lökositlerde sentezlenen bir proteindir (123,124). Bu hücrelerden başka ayrıca, sitokinlere bölgesel bir yanıt olarak koroner arterlerin düz kaslarında ve sitokin, özgül adipokin ve resistinin uyarısından sonra insan adipositlerinden de sentezlenmektedir (Şekil 16) (125).



Şekil 16. Sitokinler ve inflamatuvar belirteçlerin kaynakları (126).

C reaktif protein hasara uğramış hücrelerin plazma membranlarına bağlanır. Kümeleşen CRP plazmadaki LDL ve VLDL ile kompleks oluşturur. Kompleks haline gelen CRP klasik kompleman yolunu aktifleştirerek proinflamatuvar etki göstererek sitokin ve adezyon moleküllerinin üretimini artırır (49). C reaktif protein yıllarca doku hasarı ve inflamasyonun teşhisinde yararlanılan bir parametre olmasına rağmen son yıllarda kardiyovasküler hastalıkların teşhisinde de kullanılmaya başlanmıştır. Kardiyovasküler hastalıkların teşhisinde ve riskinin belirlenmesinde CRP'nin kullanılabilmesi için, daha hassas olarak ölçümüne gereksinim vardır. Bu amaçla ateroskleroz ile ilişkili CRP konsantrasyonları rutin CRP ölçümleri ile belirlenen düzeylerinin çok daha altında olduğundan yüksek duyarlılık C-reaktif protein (hs-CRP) olarak isimlendirilen daha hassas ölçüm metodları geliştirilmiştir (127, 128). Koroner arter hastalığı olan bireylerde hsCRP düzeyi gün içinde değişim gösterir ve sabah ölçülen hs-CRP düzeylerinin belirgin olarak günün diğer zamanlarındaki değerlerinden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (129). Yapılan çalışmalar hs-CRP düzeylerinin ateromatoz lezyonun kırılabilirliğini ve plağın yırtılmaya meylini de yansıtabileceğini düşündürmektedir (130). Son zamanlarda CRP ölçümünde daha duyarlı immün yöntemlerinin kullanılması ile üç farklı hastalık grubunda klinik açıdan önemli bilgiler ortaya çıkarılmıştır. Bu hastalık grupları; koroner kalp hastalıkları ve aterosklerozun diğer komplikasyonları, osteoartrit ve neonatal enfeksiyonlardır (131).

Klinik laboratuvarlarda kullanılan CRP metodları 3-5 mg/L ölçüm limitlerine sahiptir. Bu metodlar CRP'nin akut faz reaktanı olarak ölçümüne cevap vermektedir. Geleneksel ölçüm yöntemleri akut inflamasyonun neden olduğu yüksek CRP düzeylerini saptamak için uygundur. Oysa aterosklerozun subklinik inflamasyonunda aterom plaklarından salgılanan CRP miktarı bu düzeylerin çok altında olduğundan yüksek duyarlılık testlere gerek vardır. Bu testler 0,3 mg/L'nin altındaki düzeyleri bile gösterebilmektedir (132). Yüksek duyarlılık CRP düzeyini tespit etmek için kullanılan ölçüm yöntemleri arasında, ELISA'nın en yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu belirtilmektedir (133).

1.4.1. C Reaktif Protein ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıkların teşhis edilmesi ve riskinin belirlenmesinde çok düşük yoğunluklardaki CRP düzeyini hassas ve özgül olarak ölçülebilen hs-CRP

yöntemi kullanılmaktadır. Yüksek duyarlılıklı CRP'nin kardiyovasküler olay gelişimini belirlemede LDL düzeyinden daha güçlü bir gösterge olduğu bilinmektedir (134). Prospektif çalışmalar, hs-CRP düzeyi ile ileri kardiyovasküler olaylar arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu; klinik çalışmalar ise hs-CRP'nin sağlıklı kişilerde inme, MI, angina pectoris ve diğer periferik vasküler hastalıkların belirlenmesinde güçlü ve bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (135). Artmış CRP, koroner arter hastalıklarının tüm klinik spektrumunda kötü prognoza işaret eder. Yüksek serum CRP düzeyleri kardiyovasküler hastalık belirtileri olmayan bireylerde bile gelecekteki kardiyovasküler olaylarla ilişkili bulunmuştur (30). C reaktif proteinin başlangıçta IL-6'ya yanıt olarak yalnızca karaciğer tarafından sentez edildiğine inanılmasına rağmen, yeni bulgular CRP'nin insan koroner arter düz kas hücrelerinden ve tercihen hastalıklı damarlardan üretildiğini göstermiştir. Yapılan araştırmalar yüksek bazal hs-CRP düzeylerine sahip bireylerin, kolesterol düzeylerinden bağımsız olarak risk altında olabileceğini göstermektedir (124). Genel olarak kardiyovasküler hastalık riskinin hesaplanmasında en iyi sonucu, hs-CRP ve total kolesterol/HDL oranının birlikte değerlendirilmesi vermektedir. Dolaşımda bu inflamasyonun kanıtı olan moleküllerin tayin edilmesinin kardiyovasküler hastalıkların erken tanısını sağlayacağı belirtilmiştir (136). Son yıllarda CRP'nin özellikle kardiyovasküler riski belirlemede kullanılabileceği saptanmış ve vücuttaki düşük düzeyli kronik inflamatuvar sürecin özellikle aterosklerotik kalp hastalığının hem patogenezinde hem de bu hastalığın prognozunda rol aldığı bildirilmektedir (137).

C reaktif protein, akut faz cevabı için önemli olan bir biyobelirteçtir ve görünürde sağlıklı erkek ve kadınlarda gelecekteki kardiyovasküler hastalık ve metabolik anormalliklerin karakteristik belirleyicisidir. İnsanlar kandaki CRP miktarına göre risk gruplarına ayrılır. Amerikan Kalp Derneği kuralları temelinde 3 grup vardır:

1. C reaktif protein düzeyi 1 mg/L'nin altında ise düşük risk grubu,
2. C reaktif protein düzeyi 1-3 mg/L ise orta risk grubu,
3. C reaktif protein düzeyi 3 mg/L'nin üzerinde ise yüksek risk grubudur (138).

Düşük dereceli sistemik inflamasyonun duyarlı bir göstergesi olan CRP, geleneksel risk faktörlerinden bağımsız olarak KAH riskini artırdığı için son yıllarda giderek daha önemli hale gelmiştir (139).

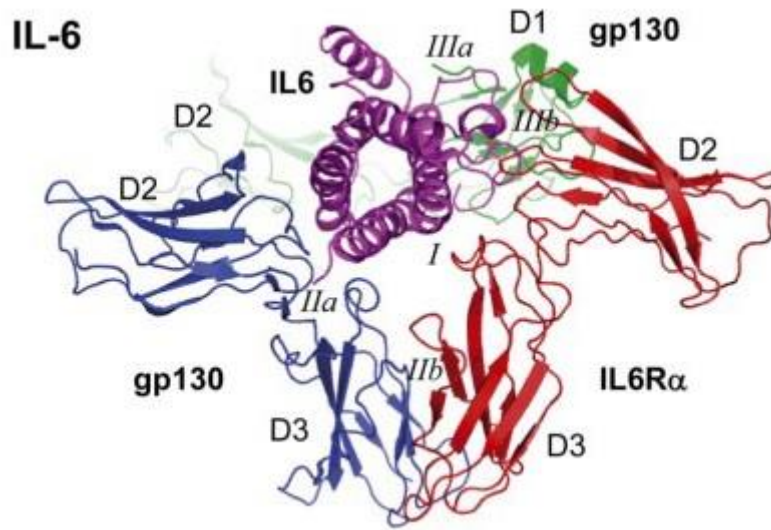
1.4.2. C Reaktif Protein ve Ateroskleroz

C reaktif protein ateroskleroz için bir risk faktörü olduğu gibi, aynı zamanda endotel fonksiyonları üzerine olumsuz etkisi ile anjiyogenezisi inhibe etmektedir (30). Yapılan araştırmalar, CRP'nin aterosklerozda aktif bir rol oynadığını ve ateroskleroz patogeneğinde önemli derecede etkili olduğunu göstermektedir (135). Aterosklerotik plak gelişiminde CRP'nin rolü vardır, aynı zamanda da kan pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu ile ilişkilidir ve tromboz riskini artırır. Aterom plaklarda normal arter dokusuna göre daha fazla ifade edilen CRP, özellikle aterom plaklarında bulunan okside LDL'ye seçici olarak bağlanarak aterosklerotik plaklarda tipik köpük hücrelerinin oluşmasını uyarmaktadır. Böylece CRP, plaktaki kompleman aktivasyonuna katkı sağlayarak inflamatuvar reaksiyonları güçlendirmektedir. C reaktif proteinin çeşitli pro-inflamatuvar mediatörlerin aşırı üretimini uyararak pro-inflamatuvar etkilere neden olduğu gösterilmiştir (140). Ayrıca, CRP trombositlerin agregasyonunu inhibe etmekte, trombositlerin degranülasyonunu başlatmakta ve doğal öldürücü hücrelerin, monosit ve makrofajların tümörosidal aktivitelerini arttırarak infekte hücrelere karşı gelişen hücre bağımlı sitotoksik yanıtı kolaylaştırmaktadır (141). C reaktif protein, aterosklerotik plak zemininde kompleman aktivasyonu ile mevcut inflamasyonu arttırmaktadır. C reaktif proteinin aterogenez sürecindeki halen bilinen rollerinden bazıları arasında monositlerde doku faktörü ekspresyonu aracılığı ile prokoagülan etkisi, doğrudan vasküler endotel etkileri, monositler için kemotaktik etkisi, insan nötrofillerine kuvvetle bağlanması, makrofajlar tarafından modifiye LDL'nin alınmasındaki rolü, kompleman aktivasyonu ve bu mekanizma ile doku hasarı, hücre adezyon moleküllerinin dökülmesine etkisi, bozulmuş endotel fonksiyonu ile ilişkisi sayılabilir (142). Yüksek duyarlı CRP, hücresel adezyondan sorumlu moleküllerin sentezini ve LDL oksidasyonunu arttırarak, ateroskleroza zemin hazırlamaktadır (143).

1.5. İnterlökin-6

İnterlökin-6 (IL-6), 1986 yılında Hirano ve Kishimoto tarafından keşfedilmiş olup yaklaşık 26 kDa ağırlığında olan bir sitokindir (144). İnterlökin-6; inflamasyon,

immün cevap ve hücre yaşamı da dahil olmak üzere çeşitli alanlarda fizyolojik işlevleri olan hematopoetik sitokinlerin bir grubudur (145). İnterlökin-6, doku hasarı ve inflamasyona cevap olarak T ve B lenfositleri, monosit, fibroblast, endotel hücreleri, keratinosit, mast hücreleri, kemik iliği stroma hücreleri, nöronal hücreler ve çeşitli tümör hücreleri tarafından üretilmektedir (144). Yağ dokusu da IL-6'nın önemli bir kaynağıdır (146). İnflamasyon bölgesinden eksprese edilen IL-6'nın kronik inflamasyonda merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir (145). İnterlökin-6, güçlü pirojenik aktivite ile akut faz tepkileri indükleyen hepatosit uyarıcı bir faktördür. İnsan IL-6 geninin kromozom 7p21 lokalizasyonlu olduğu bildirilmiştir (147). Mononükleer fagositik hücreler IL-6'nın en önemli kaynağıdır. İnterlökin-1 ve TNF- α 'nın etkisi ile salgılanır ve bu sitokinlerle sinerjistik etkilere sahiptir. İnterlökin-6, inflamatuvar ve immün yanıtlarda, özellikle akut faz cevabında rol oynayan multifonksiyonel bir sitokindir (148). Viral enfeksiyonlar, lipopolisakkaritler ve çeşitli sitokinlerin uyarısı ile salgılanır. Travma, inflamasyon, otoimmün hastalıklar ve çeşitli malignitelerde serum düzeyleri artar (149). İnterlökin-6 hedef hücre yüzeyindeki özgül reseptörü olan IL-6R bağlanır ve daha sonra inflamatuvar yanıtı neden olan hücre içi sinyal kaskadını aktive eder (150). İnterlökin-6'nın reseptörü 60 kDa'luk bağlayıcı bir protein ile 130 kDa'luk sinyal ileten alt birimden oluşur (151). İnterlökin-6R düşük afinite ile bağlanma için yeterli olmasına rağmen, sinyal iletiminde bir sinyal molekülü olan gp130 varlığını gerektirmektedir (Şekil 17) (152).



Şekil 17. İnterlökin-6 ve reseptörünün yapısı (153).

İnterlökin-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine olup, akut faz yanıtı proteinlerinin sentezi için hepatositleri uyaran pro-inflamatuvar bir sitokindir (154). İnterlökin-6, B tipi lenfositlerin farklılaşmasını uyarmasının yanı sıra kemik metabolizması, immünolojik yanıt, nöronların gelişimini ve hematopoez gibi işlemlerde yer almaktadır (146). Hedef hücreye bağlı olarak büyümeyi uyaran, büyümeyi inhibe eden ve farklılaşmayı sağlayan etkinliğe sahiptir. Başlangıçta proinflamatuvar bir sitokin olduğu düşünülen IL-6'nın daha sonra yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar ve immünosupresif etkilerinin de olduğu saptanmıştır. İnterlökin-6'nın anti-inflamatuvar bir sitokin olarak rolü TNF- α ve IL-1 üzerine olan inhibitör etkileri ve IL-10'un aktivasyonu aracılıdır (155).

İnterlökin-6, akut faz cevabı için merkezi bir uyarandır ve aynı zamanda karaciğerden CRP'nin üretiminde primer belirleyicidir (156). Ayrıca, kompleman, orosomukoid, haptoglobin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinlerinin sentezi için gereken uyarı olan hepatosit aktivasyonunu tetiklemektedir. İnterlökin-6'nın başlıca görevleri:

1. T ve B lenfosit gelişimi ve farklılaşmasını uyararak antikor üretimini ve doğal öldürücü hücre etkinliğini artırır (151).
2. İnterlökin-6, ateş ve akut faz yanıtının en önemli mediyatörlerinden biridir.
3. Çeşitli akut faz proteinlerinin (CRP, serum amiloid A, α 1-antikimotripsin, fibrinojen ve haptoglobülin gibi) üretimini artırır (157).
4. B lenfositlerden immünoglobülin üretimini artırır (144).
5. İnterlökin-6'nın, immün ve akut faz cevabında, hematopoezde, nöronların fonksiyonunda ve gelişmesinde rol oynadığı gösterilmiştir.
6. Nötrofil ve makrofajların olgunlaşmasını sağlar.
7. İnterlökin-6, IL-3 ile birlikte çalışarak nötrofil, monosit, eosinofil ve megakaryositlerin proliferasyonunu desteklemektedir.
8. T hücrelerinin ve timositlerin kostimülatörüdür (158).

1.5.1. İnterlökin-6 ve Kardiyovasküler Hastalıklar

İnterlökin-6; monosit makrofaj aktivasyonuna, makrofajlardan köpük hücre oluşumuna ve trombosit aktivasyonuna neden olarak aterosklerozun gelişmesi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar (159). İnterlökin-6, koagülasyon faktörlerinin sentezi uyararak, hücre-dışı matriksin degradasyonuna ve endotel disfonksiyonu

neden olur (146). İnterlökin-6, inflamasyon ve aterosklerotik süreç arasında köprü görevi olan çok fonksiyonlu bir sitokin olarak hareket eder. İnterlökin-6 üretiminin artması KAH gelişimi veya ilerlemesine neden olur ve yüksek IL-6 düzeyleri KAH riski ve şiddeti ile ilişkilidir (160). İnterlökin-6'nın yüksek düzeyleri, aterosklerotik plak gelişimi ve rüptürü üzerine olan etkilerinden bağımsız olarak, tromboza yatkınlığa da artırmaktadır. Bazı çalışmalar IL-6'nın obezite ile kuvvetli bir beraberliğinin olduğunu ve muhtemelen hepatik CRP, fibrinojen ve akut faz proteinlerinin stimülasyonu nedeniyle koroner arter hastalığı ve tip 2 DM gelişiminde bir belirleyici olabildiğini göstermiştir (161). İnterlökin-6, akut kardiyovasküler olayların patogenezinde yer alan pro-inflamatuvar ve prokoagülan özelliklere sahip bir sitokindir. Akut MI ve kararsız angina olan hastalarda dolaşımdaki IL-6 düzeylerinin yüksek olduğunu yapılan çalışmalarda göstermiştir (162). İnterlökin-6 aktive olmuş makrofajların ve lenfositlerin etkilerini düzenleyerek aterogenez, lipid bozukluğu, HT ve insülin direnci gelişimini hızlandırır (163). İnterlökin-6 trombosit agregasyonu ile beraber doku faktörü, makrofaj LDL reseptörü, CRP ve fibrinojenin ekspresyonunu uyarır. Yapılan bir çalışmada, lezyonlar plak morfolojilerine göre önemsiz plak, basit plak ve kompleks plak olarak ayrılmış ve kompleks koroner plakları olan hastalarda IL-6 ve CRP düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (164). Aterosklerotik damarlardaki IL-6 mRNA'sının nonaterosklerotik damarlara göre 10-40 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (165). Kararsız anjina pektoris ve akut MI olan hastalarda, artmış CRP ve IL-6 düzeyleri kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (166).

Biz bu çalışmamızda koroner arter hastalığı saptanan olgularda ters kolesterol taşınımındaki önemli rolü nedeniyle LCAT gen polimorfizminin rolünü ve hastalığın etiolojisinde önemi bulunan inflamasyon biyobelirteçleri ile LCAT gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hasta ve Kontrol Grupları İçin Bireylerin Seçimi

Mart 2012-Aralık 2012 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi (FÜTF) Hastanesi Kardiyoloji Kliniğine göğüs ağrısı nedeniyle başvuran ve koroner anjiyografi yapılan, FÜTF etik kurulunca onaylanmış “aydınlatılmış onam” formunu imzalayarak çalışmada yer almayı kabul eden 300 katılımcı çalışmaya dahil edildi. Anjiyografi sonucu koroner damarlarda herhangi bir lezyonun saptanmadığı 100 katılımcı kontrol grubunu oluştururken, bir veya daha fazla koroner arterde stenoz ($\geq 50\%$) saptanan 200 katılımcı da hasta grubunu oluşturdu. Hasta grubundaki katılımcılardan 70’i tek damar (tek damar grubu) ve 130 hasta ise birden fazla damar (çok damar grubu) lezyonuna sahipti.

Çalışmaya alınmama kriterleri:

- 1- 18 yaşın altında olan kişiler
- 2- Malignite varlığı
- 3- İleri derecede sistemik hastalık varlığı

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin anamnezleri alınarak sistolik ve diyastolik kan basınçları ölçülmüş ve aile hikayeleri yönünden sorgulanmıştır. Çalışma için FÜTF Etik Kurulundan (Etik Kurulun 15.03.2012 tarih ve 06-03 nolu kararı gereğince) onay alındı. Çalışma konusunda bilgilendirilerek rızaları alınan tüm katılımcılara bilgilendirilmiş onay formları imzalatıldı (Ek 1).

2. 2. Kan Örneklerinin Alınması

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden sabah vakti olmak üzere 10-12 saatlik açlığı takiben K_3 -EDTA içeren tüpe ve jelli vakumlu düz biyokimya tüpüne kan örnekleri alındı. Jelli düz biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serumların bir kısmı ile Total Kolesterol, HDL, LDL, VLDL ve Trigliserid düzeyleri aynı gün içinde FÜTF Hastanesi Merkez Laboratuvarında çalışıldı. Geriye kalan serum örnekleri ise; LCAT, hsCRP ve IL-6 ölçümlerinde kullanılmak üzere eppendorf tüplere ayrılarak -80°C ’de çalışma gününe kadar saklandı. DNA izolasyonunda kullanılmak üzere K_3 -EDTA içeren tüplere alınan kan örnekleri de herhangi bir işleme tabi tutulmadan çalışma gününe kadar -80°C ’de saklandı.

2. 3. Biyokimyasal Ölçümler

Serum Kolesterol, HDL, LDL ve Trigliserid düzeylerinin ölçümü, Advia 1800 Chemistry System (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Tarrytown, NY, USA) otoanalizöründe orijinal kitler (Advia Chemistry) kullanılarak yapıldı.

2. 3. 1. Serum Kolesterol Düzeylerinin Ölçümü

Bu metodun prensibi; kolesterol esterlerinin kolesterol esteraz (CHE) tarafından kolesterol ve serbest yağ asitlerine hidroliz edilmesi sonucu açığa çıkan kolesterolün, kolesterol oksidaz (CHO) tarafından kolesterol-3-one ve hidrojen peroksite okside edilmesi esasına dayanır. Açığa çıkan hidrojen peroksit, peroksidaz varlığında 4-aminoantipirin ve fenol ile reaksiyona girerek renkli kinonimin boyası oluşturur. Meydana gelen renkli boyanın absorbanı 505/694 nm'de endpoint reaksiyonla spektrofotometrik olarak ölçülerek kolesterol düzeyi tayin edilir.

2. 3. 2. Serum HDL Düzeylerinin Ölçümü

Serum HDL düzeylerinin ölçümü iki farklı reaksiyon basamağından oluşur.

1.Basamak: HDL dışındaki diğer lipoproteinlerin (şilomikron, VLDL ve LDL) spesifik koşullarda kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından hidroliz edilmesi ve açığa çıkan hidrojen peroksidin katalaz ile ortamdan uzaklaştırılması esasına dayanır.

2.Basamak: Bu basamakta; sodyum azid ile katalaz enzimi inhibe edilir. Açığa çıkan HDL, kolesterol oksidaz tarafından kolestenon ve hidrojen peroksite okside edilir. Hidrojen peroksit, peroksidaz varlığında 4-aminoantipirin ve HDAOS [N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-3,5-dimethoxyaniline] reaktifi ile reaksiyona girerek renkli kinonimini oluşturur. Meydana gelen renkli boyanın absorbanı 596/694 nm'de endpoint reaksiyonla spektrofotometrik olarak ölçülerek HDL düzeyi saptanır.

2. 3. 3. Serum LDL Düzeylerinin Ölçümü

Serum LDL düzeylerinin ölçümü aynen HDL ölçümünde olduğu gibi iki basamakta gerçekleşir.

1.Basamak: Bu basamakta LDL dışındaki lipoproteinler kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz aracılığı ile ortamdan uzaklaştırılır. Açığa çıkan hidrojen peroksit katalaz ile ortamdan uzaklaştırılır. Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol koruyucu ajanlar ile enzimatik reaksiyonlardan korunur.

2.Basamakta Sodyum azid ile katalaz enzimi inhibe edilir. Koruyucu ajanlar tarafından serbest bırakılan LDL, kolesterol oksidaz tarafından kolestenon ve hidrojen peroksite okside edilir. Açığa çıkan hidrojen peroksit, peroksidaz varlığında 4-aminoantipirin ve TOOS reaktifi ile reaksiyona girerek renkli kinonimini oluşturur. Meydana gelen renkli boyanın absorbanı 596 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülür.

2. 3. 4. Serum Triglisericid Düzeylerinin Ölçümü

Triglisericid düzeylerinin ölçüm prensibi; triglisericidlerin, lipoprotein lipaz ile gliserol ve serbest yağ asitlerine hidroliz edilmesi ve açığa çıkan gliserolün, gliserol kinaz tarafından ATP kullanılarak gliserol-3-fosfat’ a dönüştürülmesini içerir. Gliserol-3-fosfat, gliserol-3-fosfat oksidaz ile dihidroksiaseton fosfat ve hidrojen peroksite okside edilir. Açığa çıkan hidrojen peroksit, peroksidaz varlığında 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile reaksiyona girerek renkli kinonimin boyası oluşturur. Meydana gelen renkli boyanın absorbanı 505/694 nm’de endpoint reaksiyonla spektrofotometrik olarak ölçülür.

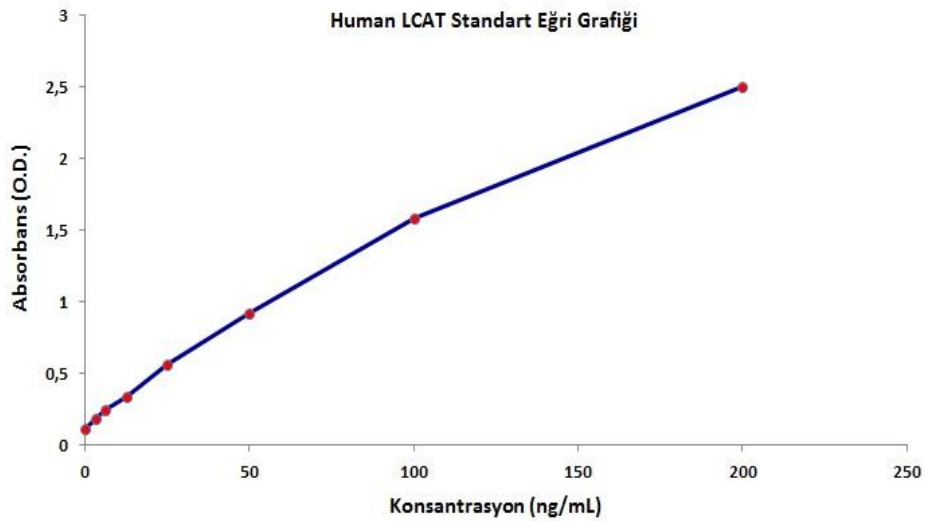
2. 4. Serum LCAT Enzim Düzeylerinin Ölçümü

Serum LCAT düzeyleri, Cusabio marka (Katalog No: CSB-E13469h, Wuhan, China) ELİSA kitleri kullanılarak ölçüldü.

- Kit kataloğunda belirtildiği şekilde hazırlanan standartlar poliklonal anti-human LCAT antikoruna ile kaplı kuyucukları içeren plate’in standart için ayırdığımız 1 numaralı kısmına konsantrasyonu küçük olan standarttan büyük olana doğru 100 µl olacak şekilde konuldu. Ardından örnekler 100’er µl olacak şekilde örnekler için ayrılmış poliklonal anti-human LCAT antikoruna ile kaplı kuyucuklara eklendi ve plate’in üzeri kaplanarak 120 dakika 37°C’de inkübe edildi.
- İnkübasyonun ardından ELISA yıkayıcısı olan Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) cihazında kuyucuklar yıkanmadan aspire edildi ve hazırlanmış olduğumuz 1X Biotinli primer antikor solüsyonundan 100 µl Biotin antikoruna her kuyucuğa ilave edip plate’in üzeri kapatılarak 60 dakika 37°C’de inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyonun ardından otomatik yıkayıcı Bio-tek ELX50’de 200 µl 1X Wash Buffer ile 3 kez yıkama yapıldı. Böylece bağlı halde olmayan LCAT

dışındaki diğer proteinler ve çalışmamızda gereksiz olan biyomoleküller uzaklaştırılmış oldu.

- 100 µl HRP-Avidin tüm kuyucuklara eklendi ve 60 dakika 37°C’de inkübe edildi. Bu aşamada avidin’in biotine olan ilgisinden faydalanılarak örneklerimizde bulunan LCAT proteinine bağlı primer antikor ile birleşmesi sağlanmış oldu.
- 200 µl 1X Wash Buffer ile Bio-tek ELX50 cihazı kullanılarak 5 kez yıkama yapıldı.
- 90 µl TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) substrat solüsyonu eklendi ve 15-30 dakika 37°C’de karanlıkta inkübe edildi. Bu maddenin HRP enzimi ile reaksiyonu sonucu mavi bir renk oluşur ve oluşan renk konsantrasyonuna bağlı olarak LCAT düzeyi belirlenir.
- Her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonü eklenerek reaksiyon durduruldu. Stop solüsyonu konulduktan hemen sonra sarı bir renk elde edildi.
- Oluşan sarı renkli ürünün absorbanansı Biotek ELX800 ELISA okuyucusunda (BioTek Instruments, USA) spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Buradan standart eğri grafiği elde edildi (Şekil 18). Bu grafiğe dayanarak sonuçlar değerlendirildi.
- Sonuçlar 1:400 dilüsyon nedeniyle 400 ile çarpıldı ve ng/mL olarak belirtildi. Kit kataloğunda bu ölçüm için intra-assay CV değeri < % 8 ve interassay CV değeri < % 10 olarak belirtilmiştir.

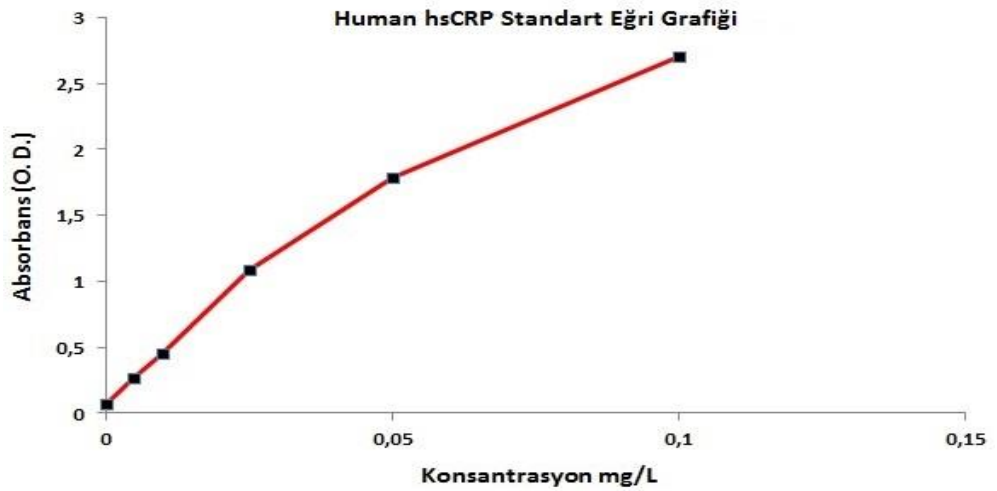


Şekil 18. LCAT standart eğrisi.

2. 5. Serum hsCRP Düzeylerinin Ölçümü

Serum hsCRP düzeyleri, insan hsCRP ELISA kiti (DRG International Inc., Katalog No: EIA-3954, USA) kullanılarak ölçüldü.

- Standartlar, kontrol ve örneklerden 10 µl alınarak poliklonal anti-human hsCRP antikoruna ile kaplı kuyucuklara eklendi.
- 100 µl CRP enzim konjugat eklendi ve oda sıcaklığında (18-25°C) 45 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyonun ardından otomatik yıkayıcı Bio-tek ELX50'de (BioTek Instruments, USA) 300 µl ile 5 kez distile su ile yıkama yapıldı. Böylece bağlı halde olmayan hsCRP dışındaki diğer proteinler ve çalışmamızda gereksiz olan biyomoleküller uzaklaştırılmış oldu.
- 100 µl TMB solüsyonu eklendi ve 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Reaksiyon 100 µl stop solüsyonu eklenerek enzimin aktivitesi durduruldu.
- Oluşan sarı renkli ürünün absorbansı Biotek ELX800 ELISA okuyucusunda (BioTek Instruments, USA) spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Buradan standart eğri grafiği elde edildi (Şekil 19). Bu grafiğe dayanarak sonuçlar değerlendirildi.
- Sonuçlar 1:100 dilüsyon nedeniyle 100 ile çarpıldı ve mg/L olarak belirtildi. Kit kataloğunda belirtilen intra-assay CV: % 2,3-7,7 ve interassay CV değeri: %2,5-4,1'di.

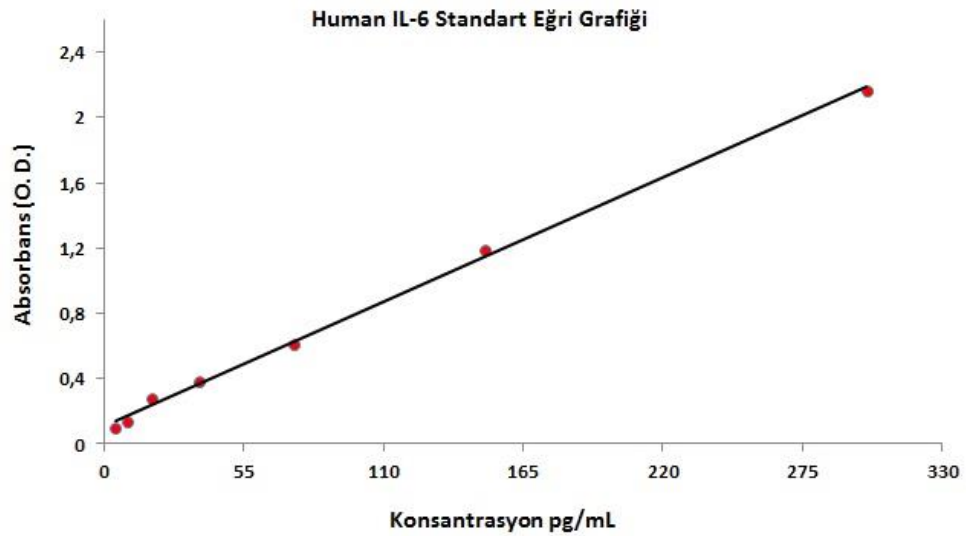


Şekil 19. hsCRP standart eğrisi.

2. 6. Serum IL-6 Düzeylerinin Ölçümü

Serum IL-6 düzeyleri, insan IL-6 ELISA kiti (Boster Biological Technology., Ltd., Katalog No: EK0410, Fremont, CA) kullanılarak ölçüldü.

- Standart ve örneklerden 100 µl; poliklonal anti-human IL-6 antikoruna ile kaplı kuyucuklara eklendi ve 90 dakika 37°C’de inkübe edildi.
- Kuyucuklar yıkamadan aspire edildi ve 100 µl Biotin antibody ilave edilip 60 dakika 37°C’de inkübe edildi.
- İnkübasyonun ardından otomatik yıkayıcı Bio-tek ELX50’de (BioTek Instruments, USA) 300 µl ile 3 kez 1X Wash Buffer ile yıkama yapıldı.
- 100 µl Avidin-Biotin-Peroxidase Complex solüsyonu eklendi ve 30 dakika 37°C’de inkübe edildi.
- 300 µl ile 5 kez yıkama yapıldı.
- 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi ve 15-30 dakika 37°C’de karanlıkta inkübe edildi.
- Reaksiyon 100 µl stop solüsyonu eklenerek durduruldu.
- Oluşan sarı renkli ürünün absorpsansı Biotek ELX800 ELISA okuyucusunda (BioTek Instruments, USA) spektrofotometrik olarak 450 nm de okutuldu. Buradan standart eğri grafiği elde edildi (Şekil 20). Bu grafiğe dayanarak sonuçlar değerlendirildi.
- Sonuçlar 1:5 dilüsyon nedeniyle 5 ile çarpıldı ve pg/mL olarak belirtildi.



Şekil 20. IL-6 standart eğrisi.

2.7. Kandan DNA İzolasyonu ve Genotiplendirme

2. 7. 1. DNA İzolasyonu

Tam kan örneklerinden DNA izolasyonu için ticari bir DNA izolasyon kiti (Lot: KC30110701, Axygen Biosciences, Nücleic Asid Purification Kit, China) kullanıldı. İzolasyon işlemleri kitin kullanım kılavuzunda belirtilen şekilde ve aşağıdaki sırayla yapıldı:

- 500 µl hücre lizis buffer (Buffer AP1) ve 250 µl tam kan örneği 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve mikrosantrifüj tüpleri 10'ar saniye vorteks ile çalkalandı.
- 100 µl protein-depleting buffer (Buffer AP2) eklenip mikrosantrifüj tüpleri tekrar 10'ar saniye vorteks ile çalkalandı ve 12000 g'de 10 dakika santrifüj edildi.
- Miniprep kolon 2 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve bu kolona bir önceki basamaktaki santrifüj sonrası oluşan süpernatant pipetle alındı. 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Filtrat mikrosantrifüj tüpünden uzaklaştırıldı, kolon tekrar 2 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve 700 µl wash buffer (Buffer W1A) eklenip 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Kolon tekrar yeni bir mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve 800 µl desalting buffer (Buffer W2) eklenip 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Kolon tekrar yeni bir mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve 500 µl Buffer W2 eklenip 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Kolon tekrar yeni bir 2 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Kolon 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve 150 µl Buffer TE (5 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA) kolona eklendi. Oda ısısında 1 dakika inkübe edildi. Ardından 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Miniprep kolon atıldı ve mikrosantrifüj tüpünde kalan pürifiye DNA, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yapılana kadar -80°C'de saklandı.

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı. Biospec-Nano spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. OD_{260}/OD_{280} oranı 1,7-1,8 olan

DNA'lar saf olarak kabul edildi. OD_{260}/OD_{280} oranı $>1,8$ ise RNA kontaminasyonunu, OD_{260}/OD_{280} oranı $<1,8$ ise protein kontaminasyonunun olduğunu göstermektedir. Çift iplikli DNA'nın 260 nm'deki absorbans değeri (Absorbans: 1), saf dsDNA için 50 µg/mL'lik bir konsantrasyona karşılık gelir. Bu bilgidan yararlanılarak DNA konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{DNA Konsantrasyonu: } OD_{260} \times 50 \text{ } \mu\text{g/mL} \times \text{Sulandırma oranı (100)}$$

2.7.2. LCAT 608 C/T ve 4886 C/T Polimorfizminin Belirlenmesi için

Kullanılan Malzeme ve Aletler

- Primerler (GenScript, Spain)

Çalışmada kullanılan primerler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve kesim enzimleri

Polimorfizm	Primer dizisi (5'→3')	Kesim enzimi
608 C/T	1.Primer: 5'TGCAGGCCAGCAGGAGGAGTACTA'3 2.Primer: 5'TTCTCACCTGAGGCCAAGACCAGC'3	BbsI
4886 C/T	1.Primer: 5'GCACCGAGCTCTGTGGCCTG'3 2.Primer: 5'CCCTTCAACCTGAAACATAGCC'3	BspMI

- Taq DNA Polimeraz Enzim Seti (Cat. No: 25024 INTRON Biotechnology, Inc., Seoul, Korea)
- dNTP'ler (100 mM set, Applied Biological Matirials Inc., Canada)
- Tris (Merck, Darmstadt, Germany)
- Borik Asit (Merck, Darmstadt, Germany)
- EDTA.2H2O (Merck, Darmstadt, Germany)
- Agaroz (Lot No: 124520PR, Biomax, Singapore)
- 50 ve 100 bç DNA Marker (İnvitrogen, USA)
- BbsI (BpiI) Kesim Enzimi: (Lot: 00114228, Fermentas, Lithuanian)
- BspMI (B ve I) Kesim Enzimi: (Lot: 00115673, Fermentas, Lithuanian)
- Yükleme Boyası (Lot: 4101, Vivantis, USA)
- Mikrosantrifüj (Eppendorf, Hamburg, Germany)

- Manyetik Karıştırıcı (IKA-Labortechnik, Germany)
- Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, USA)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik, Türkiye)
- Ultraviyole Transilluminatör (Bio-Rad Laboratories, USA)
- Yatay Elektroferez Tankı (Bio-Rad Laboratories, USA)
- Elektroferez Güç Kaynağı (Bio-Rad Laboratories, USA)
- Gel Red Dropper (Lot: 28S, Olerup SSP GelRed Dropper Bottle, Stockholm, Sweden)
- Biospec-Nano Spektrofotometre (Shimadzu Biotech 230V, Kyoto, Japan)

2.7.3. LCAT 608 C/T Gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması

LCAT 608 C/T gen bölgesinin çoğaltılması için primer 1, primer 2, dNTP karışımı, Taq DNA Polimeraz, 10X PCR buffer, distile su ve genomik DNA'yı içeren 25 µl'lik PCR karışımı hazırlandı (Tablo 2).

Tablo 2. LCAT 608 C/T Polimorfizmi için PCR karışımının içeriği

PCR bileşeni	PCR karışımındaki miktar
Primer-1 (10 pmol)	0,75 µl
Primer-2 (10 pmol)	0,75 µl
10X PCR buffer	2,5 µl
dNTP (stok 25 mM)	2,5 µl
Taq DNA Polimeraz (stok 5 U/ µl)	0,25 µl
Distile su	15,75 µl
Genomik DNA	2,5 µl
Toplam	25 µl

Denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamalarını içeren amplifikasyon döngü programı Tablo 3'de belirtildiği şekilde oluşturuldu (167). PCR karışımı önceden programlanmış olan Thermal Cycler cihazına yerleştirilerek amplifikasyona bırakıldı.

Tablo 3. LCAT 608 C/T polimorfizmi için amplifikasyon döngü programı

Reaksiyon aşaması	Sıcaklık	Süre (Dakika)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	95°C	5	1
Denatürasyon	95°C	1	35
Annealing (primer bağlanması)	60°C	1	
Extension (zincir uzaması)	72°C	1	
Final extension (son uzama)	72°C	7	1

2. 7. 3. 1. LCAT 608 C/T Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

Amplifikasyon sonrası elde edilen PCR ürünü, polimorfizmi saptamak için BbsI kesim enzimi ile 37°C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı (Tablo 4).

Tablo 4. LCAT 608 C/T gen polimorfizminin belirlenmesinde kesim için hazırlanan karışımın içeriği

Reaksiyon Karışımı	Miktarı (µl)
PCR ürünü	10 µl
10X Buffer G	2 µl
BbsI kesim enzimi	1 µl
Distile su	17 µl
Toplam	30 µl

BbsI Enzimi Kesim Bölgesi:

5’...G A A G A C (N)₂ ↓ ...3’

3’...C T T C T G (N)₆ ↑ ...5’

Bir litre distile suda 54,4 gr Tris, 27,2 gr borik asit ve 4,7 gr EDTA.2H₂O çözülerek 5X Tris-Borik Asit- EDTA (TBE) tamponu elde edildi. Elektroforez düzeneğinde ve agaroz jelin hazırlanmasında kullanılmak üzere 1 hacim 5X TBE’ye 4 hacim distile su ilave edilerek 1X TBE tamponu hazırlandı. Kesim sonrası elde edilen ürünlerin büyüklüklerini tanımlayabilmek için % 2’lik agaroz jel kullanıldı. Toz halindeki agarozun 1X TBE tamponunda mikrodalga bir fırında kaynatılarak çözünmesi sağlandı. Çözelti 50-55°C’ye soğutulmuş Gel Red Dropper ilave edildi.

Kuyucukları oluşturacak olan tarak yerleştirildikten sonra hazırlanan agaroz çözeltisi hava kabarcığı kalmayacak şekilde elektroforez kalıbına döküldü. Oda

sıcaklığında yaklaşık 30 dakika beklenerek polimerize olması sağlandı. Tarak dikkatlice çıkarılarak içinde 1X TBE tamponu bulunan yatay elektroforez tankına yerleştirildi ve jelin üzerini 1-2 mm geçecek şekilde tampon eklendi. İlk kuyuya bant büyüklüklerini karşılaştırmak için 50 bç'lik DNA ladder, diğer kuyucuklara ise örnekler, 6X yükleme boyası ile 5:1 oranında karıştırılarak 20'şer µl yüklendi. Elektroforez; 125 V, 75 mA'de yaklaşık 90 dakika olarak uygulandı. Elektroforez sonrası Ultraviyole transilluminatörde DNA'lar görüntülenerek fotoğrafları çekildi.

2. 7. 4. LCAT 4886 C/T Gen bölgesinin PCR ile Çoğaltılması

LCAT 4886 C/T gen bölgesinin çoğaltılması için primer 1, primer 2, dNTP karışımı, Taq DNA Polimeraz, 10X PCR buffer, distile su ve genomik DNA'yı içeren 25 µl'lik PCR karışımı hazırlandı (Tablo 5).

Tablo 5. LCAT 4886 C/T polimorfizmi için PCR karışımının içeriği

PCR bileşeni	PCR karışımındaki miktar
Primer-1 (10 pmol)	1 µl
Primer-2 (10 pmol)	1 µl
10X Tag PCR buffer	2,5 µl
dNTP (stok 25 mM)	2,5 µl
Taq DNA Polimeraz (stok 5 U/ µl)	0,25 µl
Distile su	15,25 µl
Genomik DNA	2,5 µl
Toplam	25 µl

Denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamalarını içeren amplifikasyon döngü programı literatürde belirtildiği şekilde oluşturuldu (108). PCR karışımı önceden programlanmış olan Thermal Cycler cihazına yerleştirilerek amplifikasyona bırakıldı (Tablo 6).

Tablo 6. LCAT 4886 C/T polimorfizmi için amplifikasyon döngü programı

Reaksiyon aşaması	Sıcaklık	Süre (Dakika)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	97°C	3	1
Denatürasyon	96°C	1	33
Annealing (primer bağlanması)	69°C	1	
Extension (zincir uzaması)	72°C	1	
Final extension (son uzama)	72°C	10	1

2. 7. 4. 1. LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

Amplifikasyon sonrası elde edilen PCR ürünü, polimorfizmi saptamak için BspMI kesim enzimi ile 37 °C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı (Tablo 7).

Tablo 7. LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin belirlenmesinde kesim için hazırlanan karışımın içeriği

Reaksiyon Karışımı	Miktarı (µl)
PCR ürünü	10 µl
10X Buffer 0	2 µl
50X oligonucleotide	0,6 µl
BspMI kesim enzimi	1 µl
Distile su	16.4 µl
Toplam	30 µl

BspMI Enzimi Kesim Bölgesi:

5’...A C C T G C (N)₄ ↓ ...3’

3’...T G G A C G (N)₈ ↑ ...5’

Bir litre distile suda 54,4 gr Tris 27,2 gr borik asit ve 4,7 gr EDTA.2H₂O çözülerek 5X TBE tamponu elde edildi. Elektroforez düzeneğinde ve agaroz jelin hazırlanmasında kullanılmak üzere 1 hacim 5X TBE’ye 4 hacim distile su ilave edilerek 1X TBE tamponu hazırlandı. Kesim sonrası elde edilen ürünlerin büyüklüklerini tanımlayabilmek için % 2’lik agaroz jel kullanıldı. Toz halindeki agarozun 1X TBE tamponunda mikrodalga bir fırında kaynatılarak çözünmesi sağlandı. Çözelti 50-55°C’ye soğutulularak Gel Red Dropper ilave edildi.

Kuyucukları oluşturacak olan tarak yerleştirildikten sonra hazırlanan agaroz çözeltisi hava kabarcığı kalmayacak şekilde elektroforez kalıbına döküldü. Oda sıcaklığında yaklaşık 30 dakika beklenerek polimerize olması sağlandı. Tarak dikkatlice çıkarılarak içinde 1X TBE tamponu bulunan yatay elektroforez tankına yerleştirildi ve jelin üzerini 1-2 mm geçecek şekilde tampon eklendi. İlk kuyuya bant büyüklüklerini karşılaştırmak için 50 bç'lik DNA ladder, diğer kuyucuklara ise örnekler, 6X yükleme boyası ile 5:1 oranında karıştırılarak 20'şer µl yüklendi. Elektroforez 125 V, 75 mA'de yaklaşık 90 dakika uygulandı. Elektroforez sonrası Ultraviyole transilluminatörde DNA'lar görüntülenerek fotoğrafları çekildi.

2. 8. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen sonuçların biyoistatistiksel değerlendirmesi için SPSS 21.0 paket programı (Fırat Üniversitesi; Lisans Numarası: 5d16140c75cad46ef65f) kullanıldı. Çalışma gruplarındaki ortalamaların karşılaştırıldığı grafiklerde standart hatanın (SEM) kullanılmasının daha doğru olduğu belirtilmiştir. Çünkü ortalamaların karşılaştırılması sırasında farklı grupların aynı evrenden seçilip seçilmediği test edilir (168). Bu nedenle gruplar arası ortalamaların karşılaştırıldığı grafiklerde veriler ortalama $\pm 2SEM$ olarak verilmiştir. Biyokimyasal parametrelerin kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırılmasında Student's t testi kullanılmıştır. Genotipler arasındaki değişkenlerin değerlendirilmesi ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. LCAT genotipleri ile allellerinin görölme sıklığının ve gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde χ^2 -kare testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Demografik Özellikler

Çalışmaya, Fırat Üniversite Hastanesi Kardiyoloji Kliniğinde takip edilen, anjiyografik olarak KAH tanısı konulmuş 200 hasta (70 kadın, 130 erkek) ile yine anjiyografi sonucu koroner arter hastalığı olmadığı tespit edilmiş 100 sağlıklı kontrol (51 kadın, 49 erkek) dahil edildi. Koroner arter hastalığı tanısı konulan hastaların 70'inde tek damar lezyonu mevcut iken 130 hasta da ise çok damar lezyonu vardı. Tek damar ve çok damar grupları ile kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$). Kontrol grubu ve KAH grubuna ait demografik bilgiler ve biyokimyasal parametreler Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Kontrol ve KAH grubuna ait demografik bilgiler ve biyokimyasal parametreler

	KONTROL (n=100)	KAH Tek damar (n=70)	KAH Çok damar (n=130)
Yaş (yıl)	49,77±10,68	59,95±11,68 ^c	63,17±10,49 ^{c, d}
Cinsiyet (K/E)	51/49	25/45 ^a	45/85 ^a
Sigara (Var/Yok)	12/88	16/54	54/76 ^b
DKB (mmHg)	74,24±9,02	80,13±10,4 ^a	80,71±10,58 ^a
SKB (mmHg)	118,79±12,93	127,39±19,12 ^a	126,59±24,02 ^a
Total Kolesterol (mg/dL)	202,9±46,00	205,2±46,35	205,71±46,53
HDL (mg/dL)	43,0±8,8	38,92±9,65 ^b	37,8±9,22 ^c
LDL (mg/dL)	129,63±38,48	129,97±37,43	130,68±40,23
VLDL (mg/dL)	28,57±14,17	34,76±15,44 ^b	35,44±14,71 ^b
Trigliserid (mg/dL)	143,06±70,58	176,77±75,72 ^b	177,08±73,6 ^b
LCAT (ng/mL)	40,32±14,49	33,63±12,97 ^c	30,73±13,32 ^c
hsCRP (mg/L)	2,27±1,14	3,51±2,12 ^c	4,5±2,53 ^{c, e}
IL-6 (pg/mL)	37,07±4,42	46,33±9,72 ^c	50,47±6,23 ^{c, e}

a: $p<0,05$; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

b: $p<0,01$; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

c: $p<0,001$; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

d: $p<0,05$; Tek damar grubu ile karşılaştırıldığında.

e: $p<0,001$; Tek damar grubu ile karşılaştırıldığında.

Yaş ortalaması kontrol grubunda $49,77\pm 10,68$ yıl, tek damar grubunda $59,95\pm 11,68$ yıl ve çok damar grubunda ise $63,17\pm 10,49$ olarak bulundu. Yaş ortalaması kontrol grubu ile tek ve çok damar grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü ($p<0,001$). Tek damar grubundaki yaş ortalaması ile çok damar grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

Çalışmada yer alan bireylerin sigara kullanım oranlarının, çok damar grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$).

Çalışma grubunda yer alan bireylerin sistolik ve diastolik kan basıncı değerlerinin tek ve çok damar gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

Serum HDL düzeylerinin; çok damar ($37,8\pm 9,22$ mg/dL) ve tek damar grubunda ($38,92\pm 9,65$ mg/dL) kontrol grubuna göre ($43,00\pm 8,8$ mg/dL) istatistiksel olarak anlamlı derece düşük olduğu saptandı (sırasıyla; $p<0,001$ ve $p<0,01$).

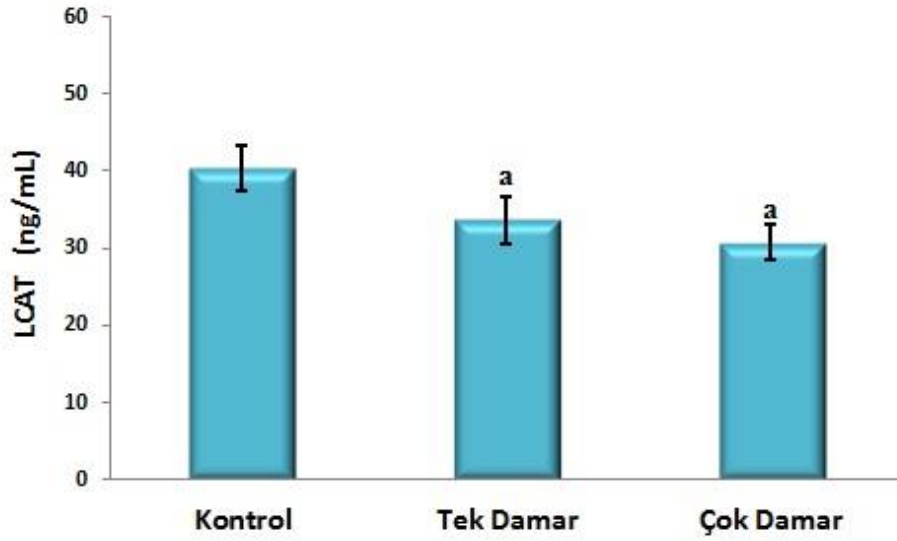
Serum trigliserid düzeyleri, çok damar ($177,08\pm 73,6$ mg/dL) ve tek damar grubunda ($176,77\pm 75,72$ mg/dL) kontrol grubuna göre ($143,06\pm 70,58$ mg/dL); istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edildi ($p<0,01$). Serum total kolesterol ve LDL düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi.

3.2. Serum LCAT Düzeyleri

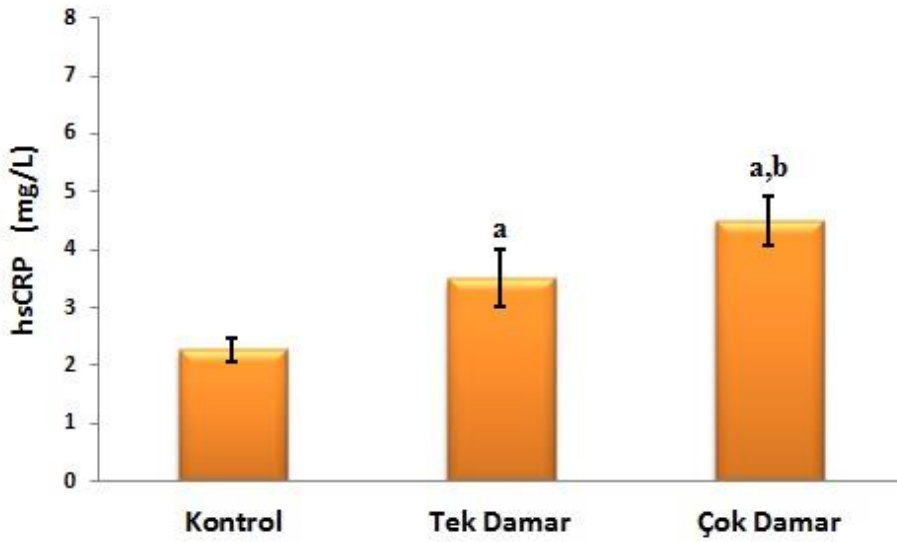
Serum LCAT düzeylerinin, çok damar ($30,73\pm 13,32$ ng/mL) ve tek damar grubunda ($33,63\pm 12,97$ ng/mL) kontrol grubuna ($40,32\pm 14,49$ ng/mL) göre anlamlı şekilde azalmış olduğu saptandı (Şekil 21) ($p<0,001$). Çok damar grubundaki serum LCAT düzeyleri, tek damar grubundaki serum LCAT düzeylerine göre daha azalmış olmasına rağmen bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,153$).

3.3. Serum hsCRP Düzeyleri

Serum hsCRP düzeylerinin, çok damar ($4,5\pm 2,53$ mg/L) ve tek damar grubunda ($3,51\pm 2,12$ mg/L) kontrol grubuna ($2,27\pm 1,14$ mg/L) göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Çok damar grubundaki serum hsCRP düzeyleri, tek damar grubuna göre daha yüksek bulundu (Şekil 22) ($p <0,001$).



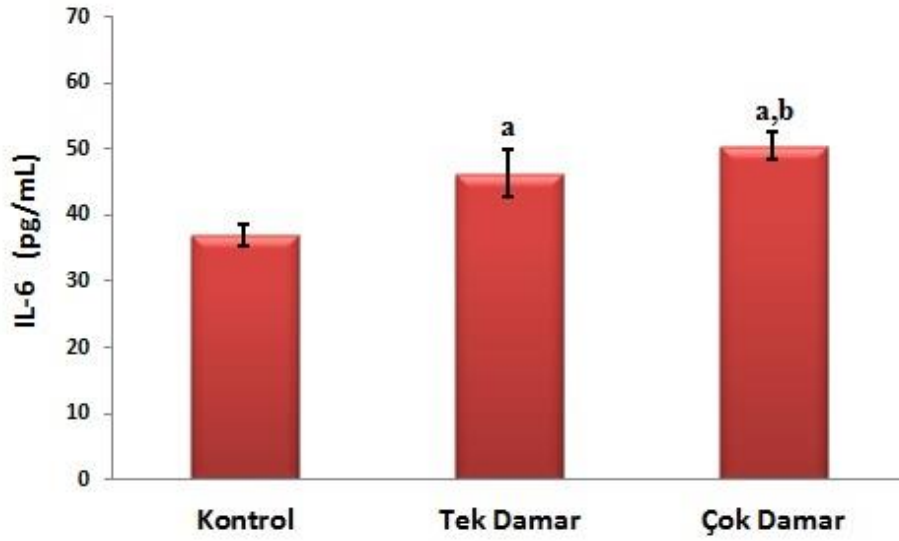
Şekil 21. Kontrol, tek damar ve çok damar lezyonu olan KAH gruplarına ait serum LCAT düzeyleri.
a: $p < 0,001$; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



Şekil 22. Kontrol, tek damar ve çok damar lezyonu olan KAH gruplarına ait serum hsCRP düzeyleri.
a: $p < 0,001$; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.
b: $p < 0,001$; tek damar grubu ile karşılaştırıldığında.

3.4. Serum IL-6 Düzeyleri

Serum IL-6 düzeylerinin hem çok damar grubunda ($50,47 \pm 6,23$ pg/mL) hemde tek damar grubunda ($46,33 \pm 9,72$ pg/mL) kontrol grubuna ($37,07 \pm 4,42$ pg/mL) göre anlamlı şekilde yüksek olduğu bulundu ($p < 0,001$). Çok damar grubundaki serum IL-6 düzeylerinin, tek damar grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 23) ($p < 0,001$).



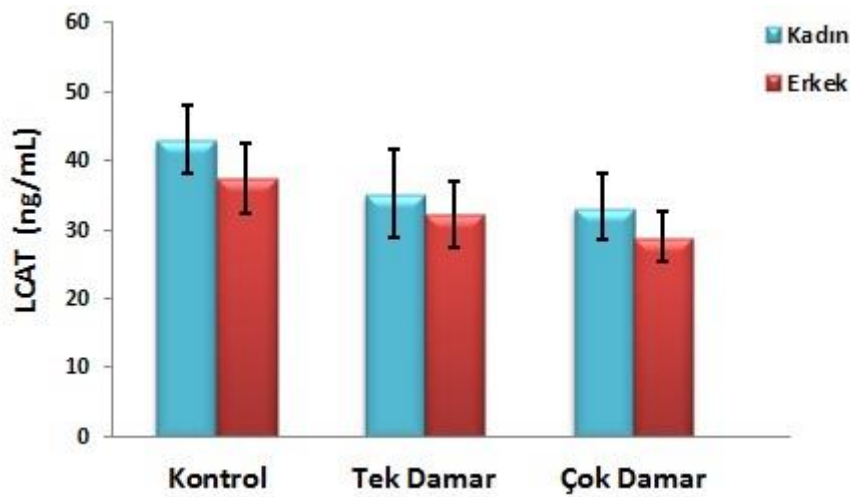
Şekil 23. Kontrol, tek damar ve çok damar lezyonu olan KAH gruplarına ait serum IL-6 düzeyleri.

a: $p < 0,001$; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

b: $p < 0,001$; tek damar grubu ile karşılaştırıldığında.

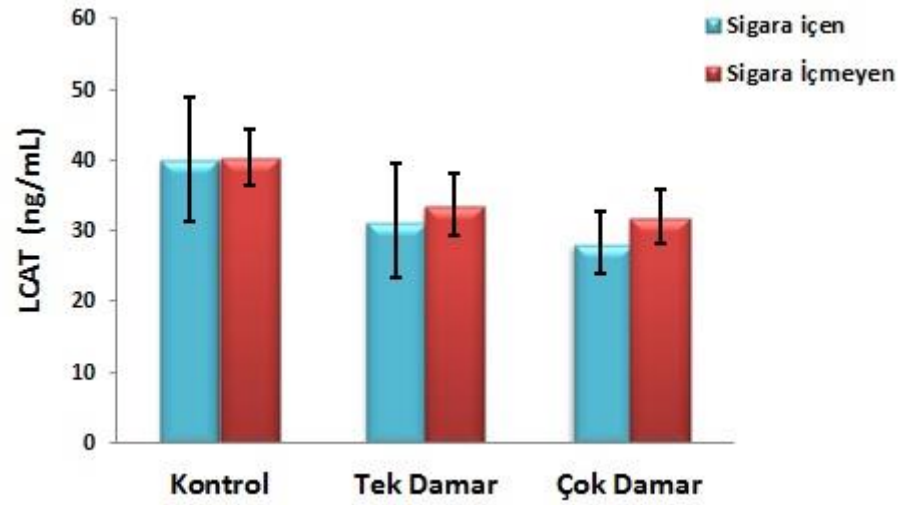
3.5. Serum LCAT Düzeyleri ve Diğer Parametreler Arasındaki İlişki

Cinsiyete göre LCAT düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubunda kadınlarda $43,09 \pm 14,4$ ng/mL ve erkeklerde $37,45 \pm 14,16$ ng/mL, tek damar grubunda kadınlarda $35,23 \pm 12,88$ ng/mL ve erkeklerde $32,24 \pm 13,04$ ng/mL, çok damar grubunda ise kadınlarda $33,29 \pm 12,8$ ng/mL ve erkeklerde $28,9 \pm 13,17$ ng/mL olarak bulundu. Cinsiyete göre LCAT düzeyleri arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 24).



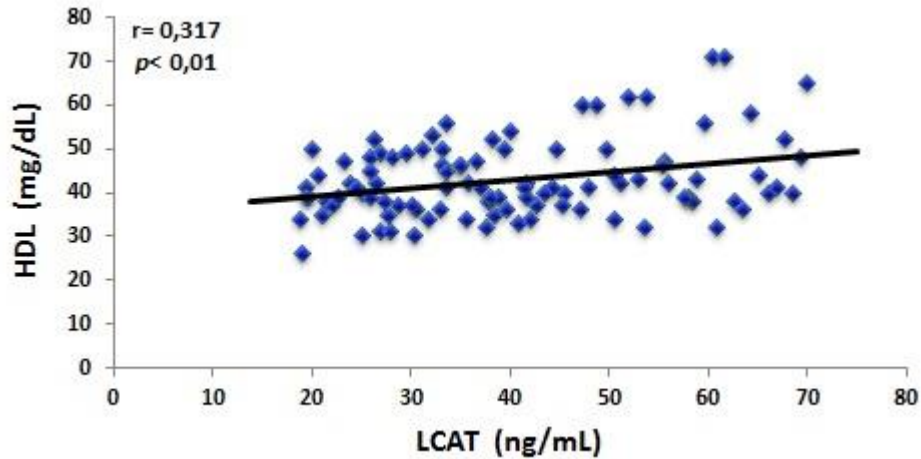
Şekil 24. LCAT düzeylerinin cinsiyete göre dağılımı.

Sigara kullanımına göre LCAT düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubunda sigara içenlerde $40,09 \pm 12,08$ ng/mL ve sigara içmeyenlerde $40,36 \pm 14,85$ ng/mL, tek damar grubunda sigara içenlerde $31,45 \pm 11,22$ ng/mL ve sigara içmeyenlerde $33,69 \pm 13,36$ ng/mL, çok damar grubunda ise sigara içenlerde $28,25 \pm 12,97$ ng/mL ve sigara içmeyenlerde $31,96 \pm 13,16$ ng/mL olarak tespit edildi. Sigara kullanımına göre LCAT düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Şekil 25).

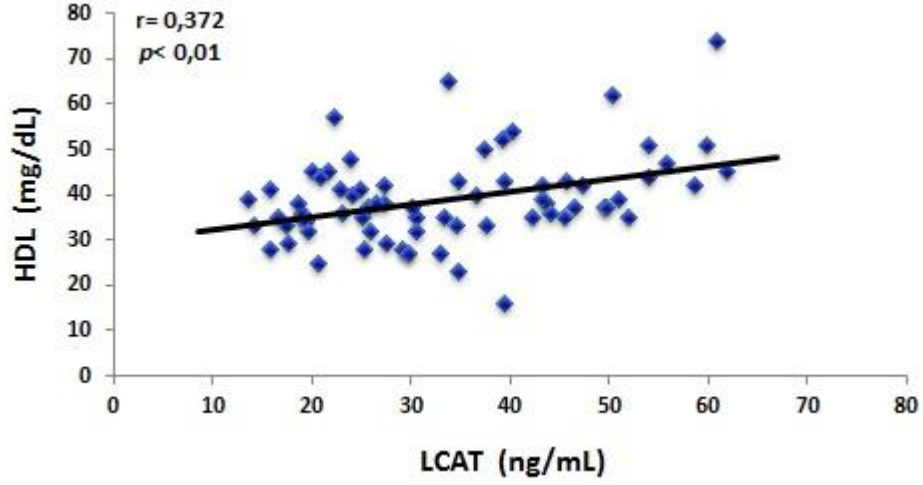


Şekil 25. LCAT düzeylerinin sigara kullanımına göre dağılımı.

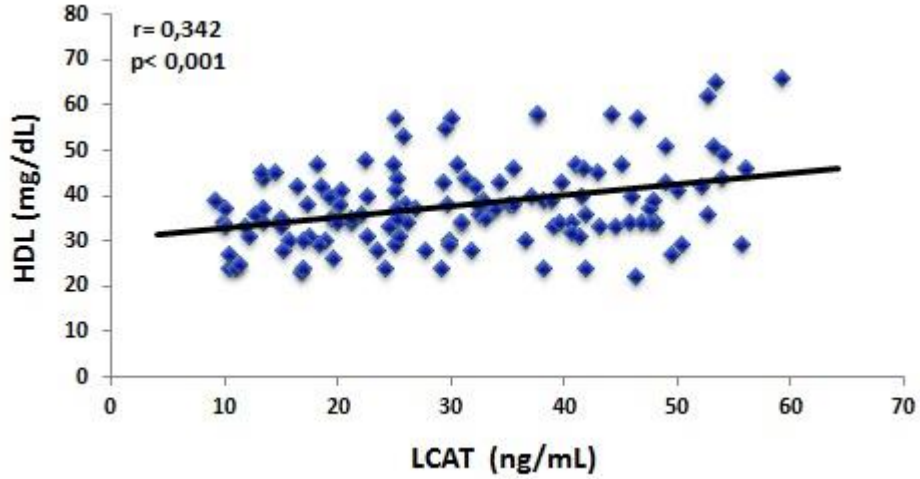
Kontrol, tek damar ve çok damar grubunda LCAT düzeyleri ile HDL düzeyleri arasında pozitif bir ilişki tespit edildi (sırasıyla; $r=0,317$, $p<0,01$, $r=0,372$, $p<0,01$, $r=0,342$, $p<0,001$) (Şekil 26-28). Tüm gruplarda; LCAT düzeyi ile yaş, DKB, SKB, total kolesterol, LDL ve trigliserid düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.



Şekil 26. Kontrol grubunda LCAT düzeyleri ile HDL arasındaki ilişki.



Şekil 27. Tek damar grubunda LCAT düzeyleri ile HDL arasındaki ilişki.



Şekil 28. Çok damar grubunda LCAT düzeyleri ile HDL arasındaki ilişki.

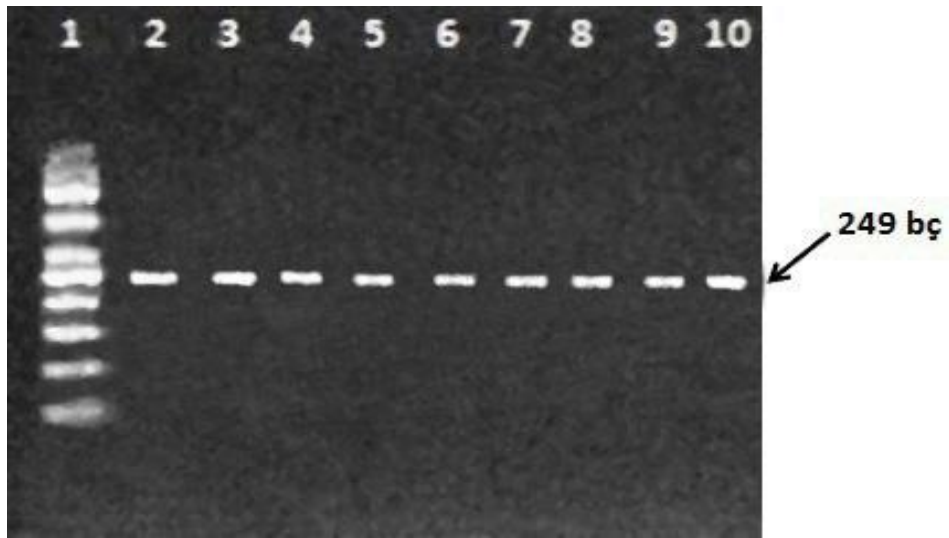
3.6. LCAT Gen Polimorfizmi Genotiplendirme Bulguları

Lesitin kolesterol açiltransferaz geninin 6. ekzonunda bulunan 4886. pozisyonu için iki farklı allel vardır. Bu allellerden ilki popülasyonda en sık görülen allel olan C alleli diğeri ise T allelidir. Bir birey 4886. pozisyon için bu allelleri ya homozigot ya da heterozigot genotip olarak taşır. Yani birey hem anneden hem babadan LCAT geninin 4886. pozisyonu için C alleli alırsa CC genotipi meydana gelir ve homozigot olarak adlandırılır. Ancak anne veya babanın birinden 4886. pozisyon için C alleli diğeri de T alleli gelirse heterozigot olarak adlandırılan

CT genotipi meydana gelir. Anne ve babadan T alleli gelirse, polimorfik homozigot (mutant) genotip olarak adlandırılan TT genotipi oluşur.

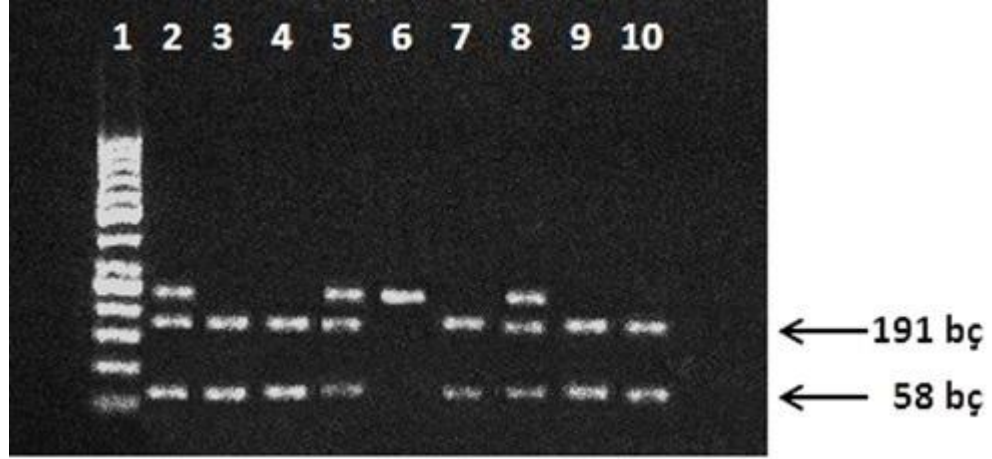
LCAT 608 C/T polimorfizmi 5. ekzonda bulunmaktadır. Bu polimorfizmde C daha sık görülen allel iken T ise polimorfik allel olarak bilinmektedir(167).

Çalışmamızda koroner arter hastaları ve sağlıklı kontrollerde, LCAT 4886 C/T polimorfizmini incelemek amacıyla, 249 baz çifti uzunluğundaki gen bölgesi uygun primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Ürünler 50 bç'lik DNA ladder ile beraber % 2'lik agaroz jelde yürütülerek UV transilluminatörde görüntülendi (Şekil 29).



Şekil 29. LCAT 4886 C/T polimorfizmi PCR ürününün kesim öncesi görüntüsü. 1 numaralı kuyu 50bç markerı, diğer kuyular 249 bç uzunluğundaki PCR ürünlerini göstermektedir.

PCR ürünü BspMI kesim enzimi ile 37°C'de 16 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucu kesim gerçekleşmişse 58 bç ve 191 bç'lik iki bant olarak (C alleli), kesim olmamışsa 249 bç'lik tek bant olarak (T alleli) gözlemlendi. İnkübasyon sonrası % 2'lik agaroz jelde 125V / 75 mA'de yaklaşık 60 dakika yürütüldü. Kontrol ve KAH grubuna ait genotipler belirlendi (Şekil 30).



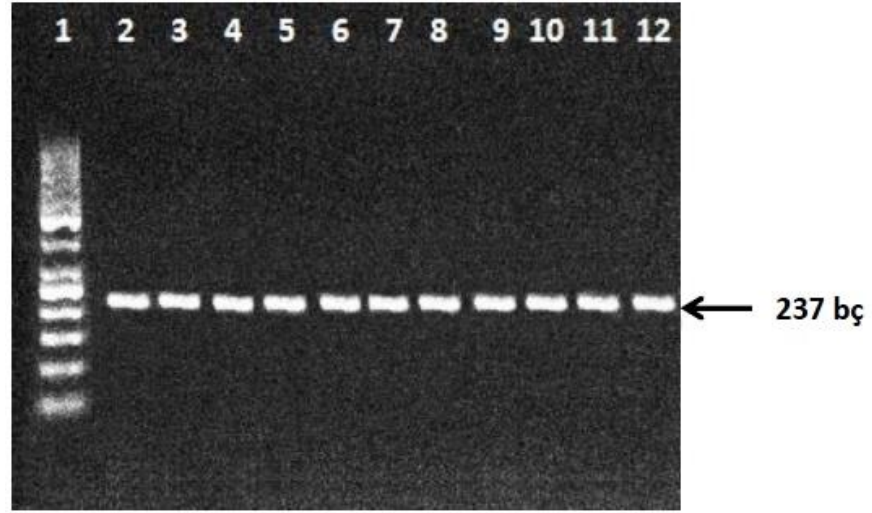
Şekil 30. LCAT 4886 C/T polimorfizminin RFLP sonrası görüntüsü. 1. kuyu 50 bç marker, 3, 4, 7, 9 ve 10. kuyularda homozigot genotip (CC), 2, 5 ve 8. kuyularda heterozigot genotip (CT), 6. kuyuda mutant genotip (TT) görünmektedir.

Yapılan genotiplendirme analizleri sonucunda kontrol grubundaki 100 kişiden 55' inde homozigot genotip (CC), 33' ünde heterozigot genotip (CT) ve 12' sinde mutant genotip (TT), tek damar grubundaki 70 kişiden 23'ünde homozigot genotip, 30'ünde heterozigot genotip ve 17'sinde mutant genotip, çok damar grubundaki 130 kişiden 35'inde homozigot genotip, 60'ında heterozigot genotip ve 35' inde mutant genotipin olduğu görüldü (Tablo 9). Hasta ve kontrol gruplarının genotip frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü ($p < 0,001$).

Tablo 9. Lesitin kolesterol açıltransferaz 4886 C/T gen polimorfizmine ait genotip ve allel frekansları

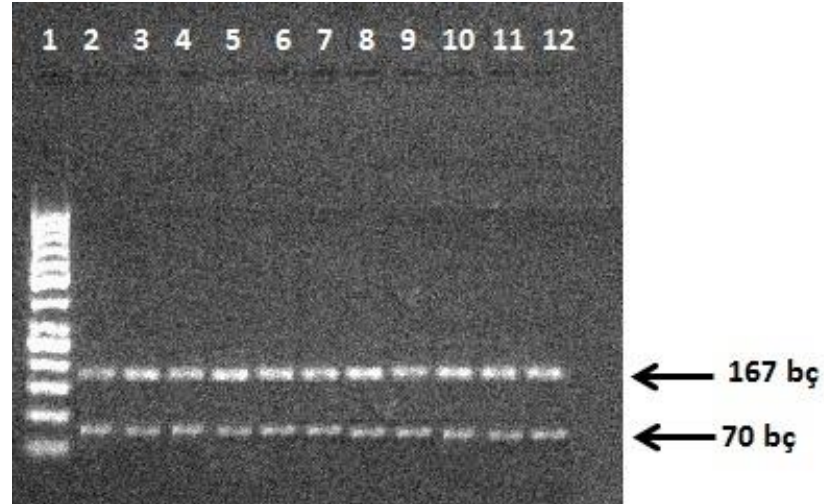
LCAT	Kontrol n (%)	KAH Tek Damar n (%)	KAH Çok Damar n (%)	<i>p</i> değeri
CC	55 (%55)	23 (%32,9)	35 (%26,9)	<0,001
CT	33 (%33)	30 (%42,9)	60 (%46,2)	<0,001
TT	12 (%12)	17 (%24,2)	35 (%26,9)	<0,001
C	143 (%71,5)	76 (%54,3)	130 (%50,0)	<0,001
T	57 (%28,5)	64 (%45,7)	130 (%50,0)	<0,001

Koroner arter hastaları ve sağlıklı kontrollerde, LCAT 608 C/T polimorfizmini incelemek amacıyla, 237 bç. uzunluğundaki gen bölgesi uygun primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Ürünler 50 bç'lik DNA ladder ile beraber % 2'lik agaroz jelde yürütülerek UV transilluminatörde görüntülendi (Şekil 31).



Şekil 31. LCAT 608 C/T polimorfizmi PCR ürününün kesim öncesi görüntüsü. 1 numaralı kuyu 50bç markeri, diğer kuyular 237 bç uzunluğundaki PCR ürünlerini göstermektedir.

PCR ürünü BbsI kesim enzimi ile 37°C’de 16 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucu kesim gerçekleşmişse 70 bç ve 167 bç’lik iki bant olarak (C alleli) gözlemlendi. İnkübasyon sonrası % 2’lik agaroz jelde 125V / 75 mA’de yaklaşık 60 dakika yürütüldü. Kontrol ve KAH grubuna ait genotipler belirlendi (Şekil 32).



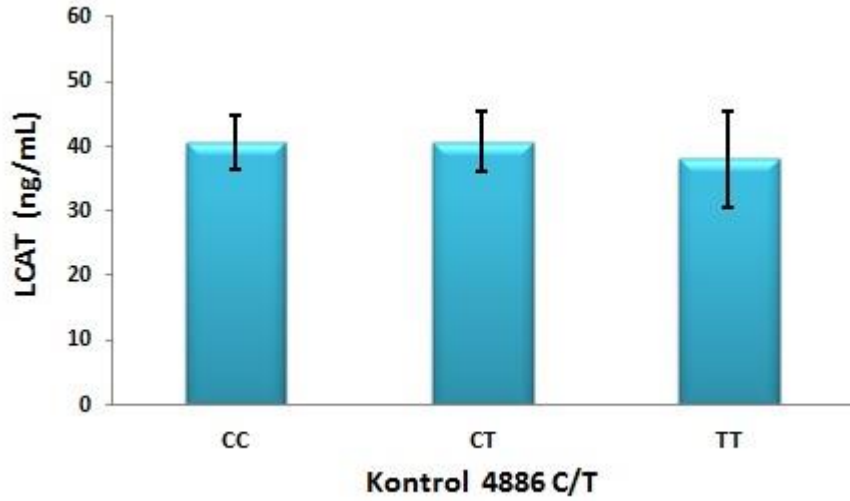
Şekil 32. LCAT 608 C/T polimorfizminin RFLP sonrası görüntüsü. 1. kuyu 50 bç marker, diğer kuyularda 167 ve 70 bç’lik 2 bant olarak homozigot genotip (CC) görünmektedir.

Yapılan genotiplendirme analizleri sonucunda kontrol grubu ve KAH grubundaki kişilerin tamamında homozigot genotipin (CC) olduğu görüldü. Mutant genotip ve heterozigot genotip çalışmamızda hiç görülmemiştir.

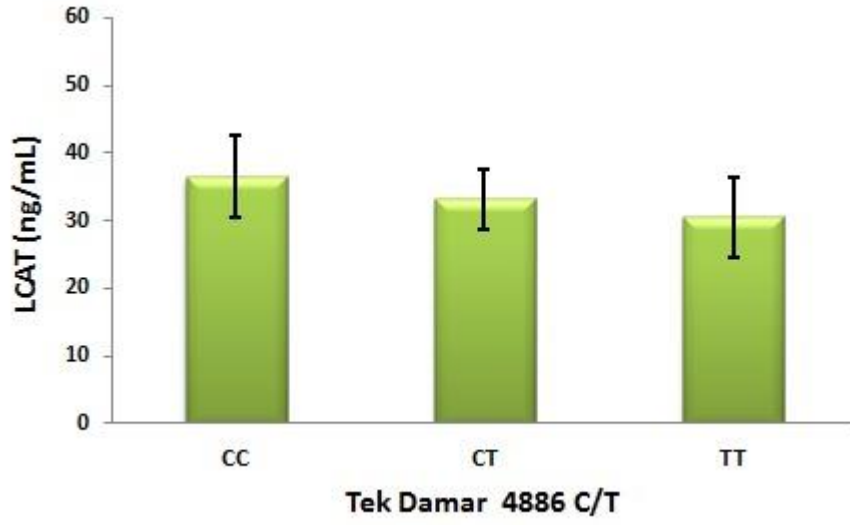
LCAT 608 C/T polimorfizminde her iki grupta sadece homozigot tip genotip gözleendiğinden dolayı LCAT, hsCRP ve IL-6 düzeyleri ve demografik özellikler ile polimorfizmlerin ilişkilendirilmesi sadece LCAT 4886 C/T polimorfizmi üzerinden yapılmıştır.

3.7. Serum LCAT Düzeylerinin LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizmiyle İlişkisi

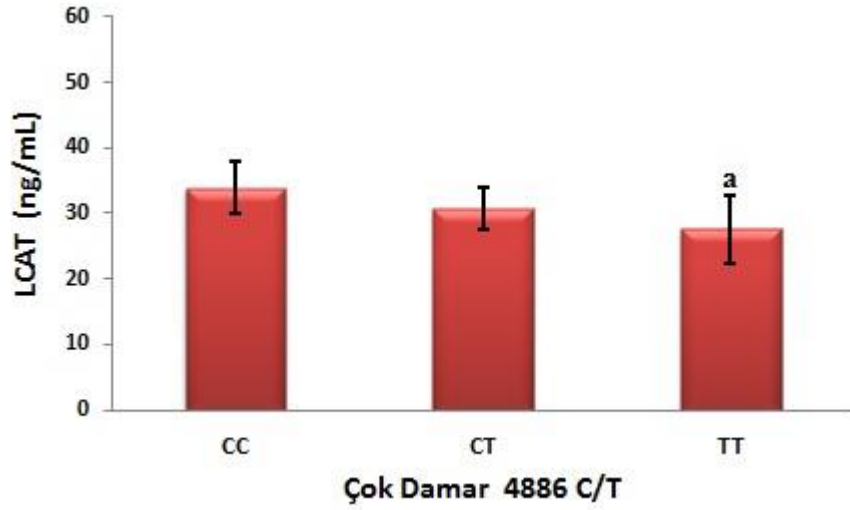
Kontrol ve tek damar grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı incelendiğinde genotipler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Ancak çok damar grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı incelendiğinde ise TT genotipindeki LCAT düzeylerinin, CC genotipine göre anlamlı ölçüde düşük olduğu bulundu ($p < 0,05$) (Şekil 33-35).



Şekil 33. Kontrol grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.



Şekil 34. Koroner arter hastalığı tek damar grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.

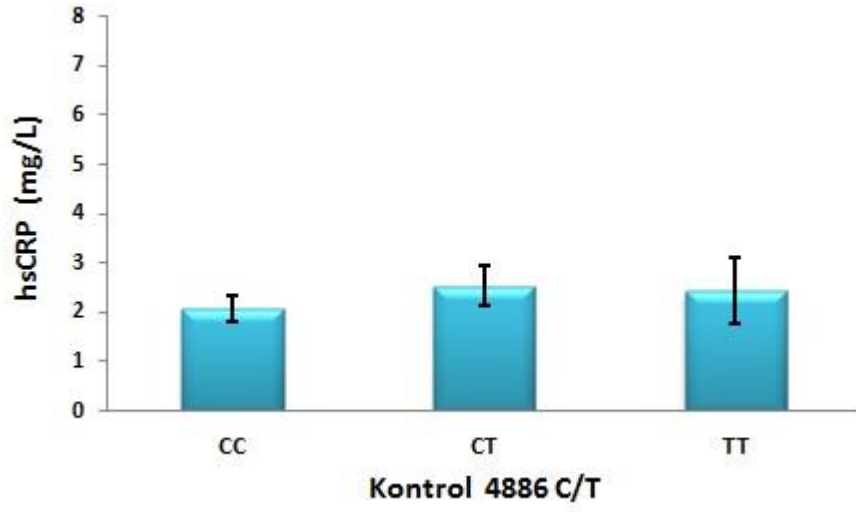


Şekil 35. Koroner arter hastalığı çok damar grubundaki plazma LCAT düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.

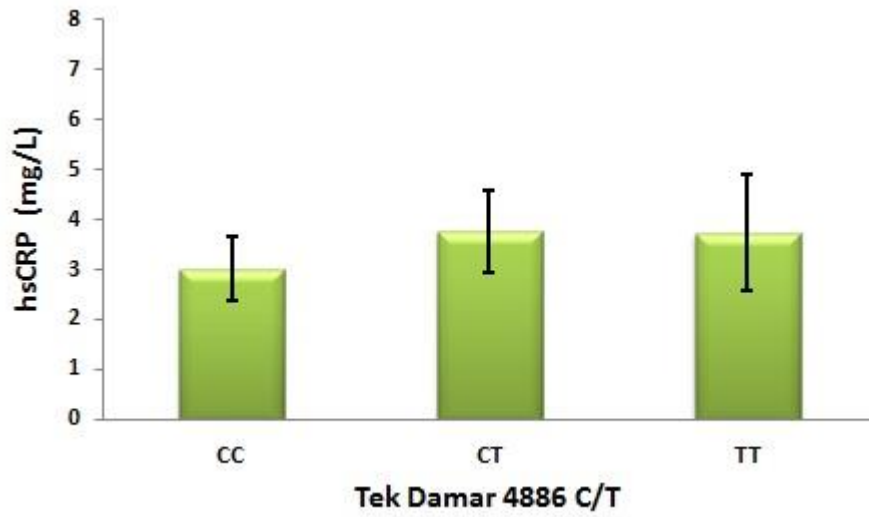
a: $p < 0,05$; CC grubu ile karşılaştırıldığında.

3.8. Serum hsCRP Düzeylerinin LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizmiyle İlişkisi

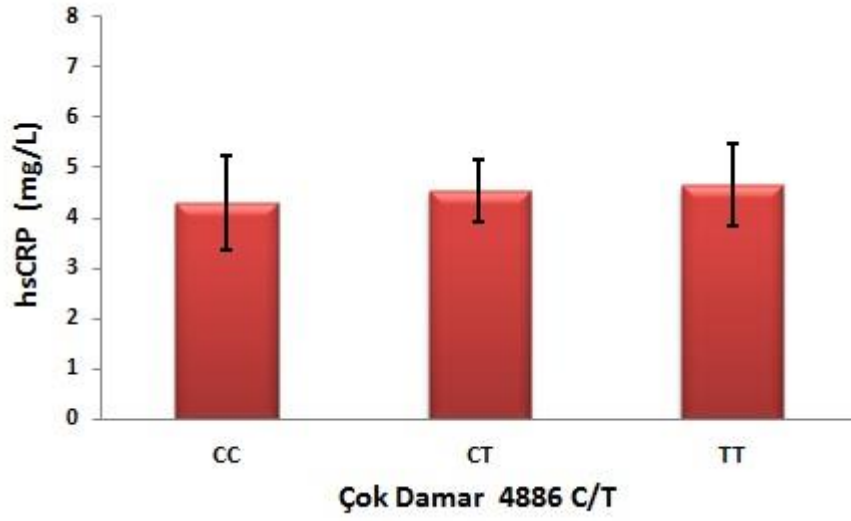
Kontrol, tek damar ve çok damar grubundaki plazma hsCRP düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı incelendiğinde genotipler arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Şekil 36-38).



Şekil 36. Kontrol grubundaki plazma hsCRP düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.



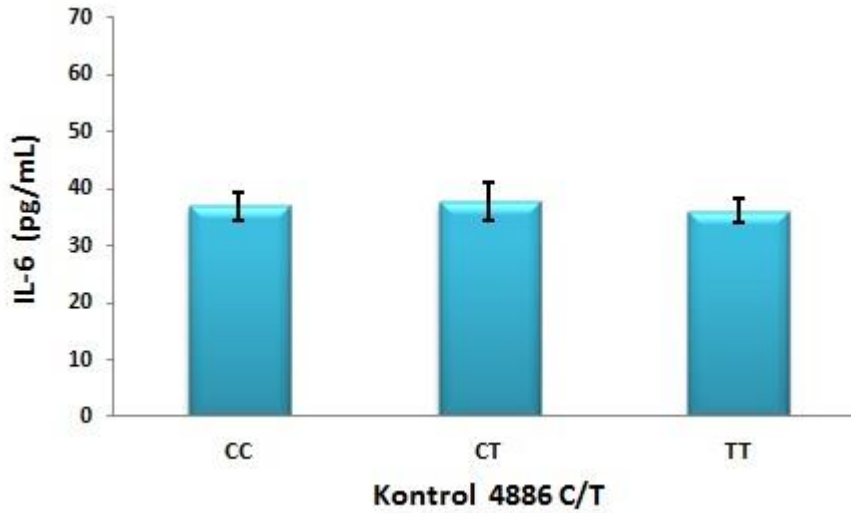
Şekil 37. Koroner arter hastalığı tek damar grubundaki plazma hsCRP düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.



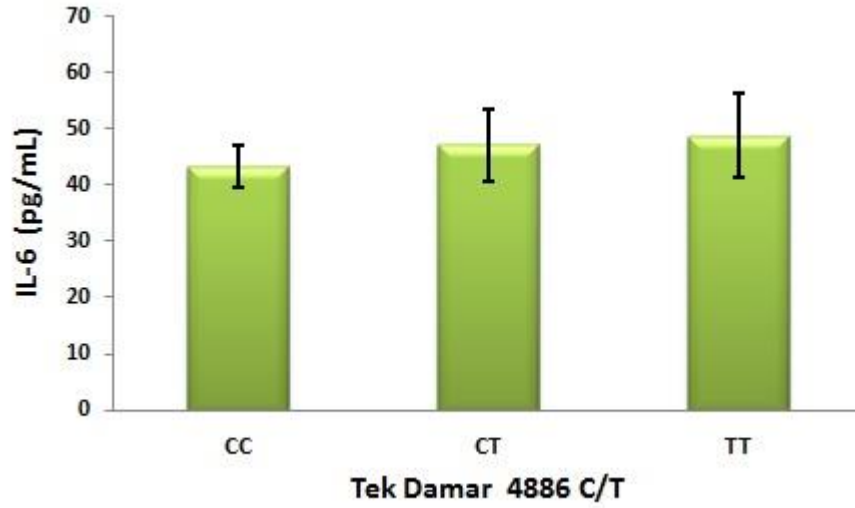
Şekil 38. Koroner arter hastalığı çok damar grubundaki plazma hsCRP düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.

3.9. Serum IL-6 Düzeylerinin LCAT 4886 C/T Gen Polimorfizmiyle İlişkisi

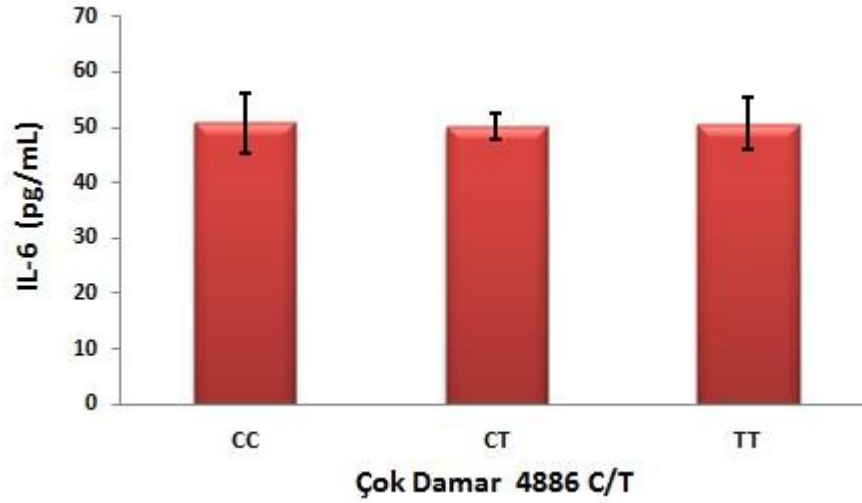
Kontrol, tek damar ve çok damar grubundaki plazma IL-6 düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı incelendiğinde genotipler arasında anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 39-41).



Şekil 39. Kontrol grubundaki plazma IL-6 düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.



Şekil 40. Koroner arter hastalığı tek damar grubundaki plazma IL-6 düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.



Şekil 41. Koroner arter hastalığı çok damar grubundaki plazma IL-6 düzeylerinin LCAT 4886 C/T gen polimorfizmine göre dağılımı.

3.10. Lesitin Kolesterol Açıltransferaz 4886 C/T Gen Polimorfizminin Bazı Parametreler Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi

Kontrol grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin bazı parametreler (DKB, SKB, Total Kolesterol, HDL, LDL ve Trigliserid) üzerindeki etkilerini incelediğimizde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Tablo 10).

Tablo 10. Kontrol grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin bazı parametreler üzerindeki etkilerinin incelenmesi

	Kontrol		
	CC (55)	CT (33)	TT (12)
DKB (mmHg)	74,5±8,9	76,3±11,9	70±8,94
SKB (mmHg)	118,5±11,8	125±16,9	110±8,9
Total Kolesterol (mg/dL)	200,29±35,11	207,54±57,59	202,08±56,90
HDL (mg/dL)	43,55±9,43	43,06±8,71	40,08±5,31
LDL (mg/dL)	128,22±29,46	133,33±49,91	125,91±41,87
VLDL (mg/dL)	27,27±12,46	29,18±15,8	32,83±17,02
Trigliserid (mg/dL)	136,67±62,12	146,06±78,63	164,08±84,80

Koroner arter hastalığı tek damar grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin total kolesterol, LDL düzeyleri üzerindeki etkileri incelendiğinde bu parametrelerin CT ve TT genotibinde CC genotibine göre yüksek olduğu tespit edildi. Koroner arter hastalığı tek damar grubunda TT genotipindeki HDL düzeyleri CC genotipine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu gözlemlendi. Trigliserid, DKB, SKB üzerindeki etkileri incelendiğinde anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü (Tablo 11).

Tablo 11. Koroner arter hastalığı tek damar grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin bazı parametreler üzerindeki etkilerinin incelenmesi

	KAH Tek Damar		
	CC (23)	CT (30)	TT (17)
DKB (mmHg)	84,28±5,34	76,15±11,9	80,0±10
SKB (mmHg)	131,43±16,76	123,08±20,15	136,66±20,81
Total Kolesterol (mg/dL)	188,35±52,48	215,26±41,13 ^a	210,23±42,26 ^a
HDL (mg/dL)	41,52±11,24	38,16±8,91	36,76±8,26 ^a
LDL (mg/dL)	114,91±39,72	135,50±33,13 ^a	137,17±38,07 ^a
VLDL (mg/dL)	30,69±17,93	39,30±13,47	32,23±13,68
Trigliserid (mg/dL)	155,21±89,71	196,36±67,47	171,35±63,19

a: $p < 0,05$; CC grubu ile karşılaştırıldığında.

Koroner arter hastalığı çok damar grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin DKB, SKB, total kolesterol, LDL ve trigliserid üzerindeki etkilerini

incelediğimizde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Çok damar grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin HDL üzerindeki etkileri incelendiğinde TT genotipindeki HDL düzeylerinin CC genotipine göre anlamlı olarak düşük olduğu bulundu (Tablo 12).

Tablo 12. Koroner arter hastalığı çok damar grubunda LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin bazı parametreler üzerindeki etkilerinin incelenmesi

	KAH Çok Damar		
	CC (35)	CT (60)	TT (35)
DKB (mmHg)	73,0±8,23	82,85±9,13	82,0±12,29
SKB (mmHg)	119,0±15,95	131,43±26,26	124,0±27,56
Total Kolesterol (mg/dL)	195,37±51,90	210,06±46,19	208,60±40,83
HDL (mg/dL)	39,77±12,25	38,11±7,52	35,31±8,01 ^a
LDL (mg/dL)	122,57±43,55	133,73±40,00	133,57±37,07
VLDL (mg/dL)	32,71±12,60	36,13±15,39	36,97±15,51
Trigliserid (mg/dL)	163,03±62,84	180,50±77,01	185,28±77,58

a: $p < 0,05$; CC grubu ile karşılaştırıldığında.

4. TARTIŞMA

Dünya çapında mortalitenin başta gelen nedeni olan koroner arter hastalığı ülkemizde de en sık ölüm nedenini oluşturmaktadır (3, 169). Irk ve etnik gruplara bağlı olarak değişiklik gösteren çevresel ve genetik faktörler, koroner arter hastalığı patogenezinde önemli bir rol oynar (17). Koroner arter hastalığının gelişiminde HT, hiperlipidemi, sigara kullanımı, DM, obezite, erkek cinsiyet ve yaş gibi iyi bilinen risk faktörlerinin yanı sıra yapılan araştırmalarda yeni risk faktörleri olarak hsCRP, fibrinojen, homosistein, lipoprotein (a), küçük LDL partikül boyutu; potansiyel risk faktörleri olarakta LP-PLA2, ADMA, BNP, miyeloperoksidaz, oksidatif stres ölçümleri ve aday gen polimorfizmleri belirtilmiştir (21, 123).

Koroner arter hastalığı risk faktörlerinden biri olan yaşın artışı ile birlikte KAH sıklığı artmaktadır (62). Bizim yaptığımız çalışmada kontrol ve KAH grubunun yaş ortalamaları değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre KAH grubunda yaşın daha yüksek olduğu ve bununla istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü.

Sigara koroner arter hastalığı için ana risk faktörlerinden biridir. Sigara içenlerde koroner arter hastalığının sık görülmesinin yanı sıra, koroner arter hastası olanlar sigara içmeye devam ettiğinde koroner arter hastalığı mortalitesi yüksek seyretmektedir (68). Çalışmamızda da sigara kullanımının KAH grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Sigara kullanımı sonucu artan okside LDL kompleman aktivitesini uyararak kemotaktik sitokinlerin yapımına neden olur. Sitokin düzeylerinin artması sonucu endoteli geçerek intimaya ulaşan mononükleer fagositler, makrofajlara ve lipid yüklü köpük hücrelerine dönüştüğünden dolayı sigaranın ateroskleroz patogenezinde önemli bir rolü olduğunu ve aterosklerozu hızlandırdığını düşünmekteyiz.

Hipertansiyon, endotel disfonksiyonuna ve oksidatif strese artışa neden olarak miyokardın oksijen ihtiyacını artırıp koroner olaylara etki eder. Hipertansiyon, diğer KAH risk faktörlerinden bağımsız olarak erken aterosklerotik hastalık riski ile ilişkilidir (23). Bizim çalışmamızda da SKB ve DKB'ları kontrol ve KAH grupları arasında karşılaştırıldığında KAH grubunda anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi.

Koroner arter hastalığının en sık nedeni olan ateroskleroz; orta ve büyük çaplı arterlerin, intima ve mediasında önce endotel fonksiyon bozuklukları ile başlayıp

daha sonra intima tabakasında lipid birikimi ile devam eden yaygın yapısal bir hastalıktır (6). Aterosklerozun her aşamasında inflamasyon merkezi bir konumdadır ve inflamasyon sonucunda aterosklerozun başlangıç lezyonu olan, endotel altında lipid birikimi ile karakterize yağlı çizgilenmeler oluşur (170). Ekstrasellüler lipid birikiminden sonra bu bölgede toplanan lökositler plak destabilizasyonu dahil olmak üzere, aterosklerotik lezyon gelişiminin tüm aşamalarında önemli bir rol oynarlar (171). Lökositlerin aktivasyonu sonucu uyarılan sitokinlerden biri olan IL-6, inflamasyon ve aterosklerotik süreç arasında köprü görevi olan çok fonksiyonlu bir sitokin olup IL-6 üretiminin artması KAH gelişimi veya ilerlemesine neden olmaktadır (160). İnterlökin-6; monosit makrofaj aktivasyonuna, makrofajlardan “köpük hücre” oluşumuna ve trombosit aktivasyonuna neden olarak aterosklerozun gelişmesi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar (159). Galimudi ve ark. (172) birinci derece akrabalarında KAH öyküsü olan asemptomatik sağlıklı bireylerdeki IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek fakat KAH grubuna göre ise düşük olduğunu tespit etmiş ve bunun sonucunda aile hikayesi pozitif bireylerdeki yüksek IL-6 düzeylerinin bu bireylerde gelecekte KAH riski taşıdığına işaret edebileceğini öne sürmüşlerdir. Su ve ark. (173) KAH prognozu ve ilerlemesinde inflamasyonun potansiyel rolünü destekleyerek IL-6'nın KAH mortalitesi için güçlü bir belirleyici olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada da 438 hastaya koroner anjiyografi yapılmış ve IL-6 ve CRP düzeyleri, ciddi stenoza öngörmede başarılı bulunmuştur (174).

Bu çalışmada KAH grubundaki IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş olup, bu sonuç istatistiksel açıdan anlamlı olarak tanımlanmıştır ($p<0.05$). Bu sonuçlar; Tajfard ve ark. (175), Ol ve ark. (176), Danesh ve ark. (177), Mahalle ve ark. (178), Tanindi ve ark. (179), Cui ve ark. (180) ve diğer birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur. Ateroskleroz ve bunu takiben KAH gelişiminde inflamatuvar yanıtlar önemli bir rol oynar. Aterosklerozun başlangıç aşamasında damar duvarında biriken lipidler inflamatuvar hücreleri aktive etmektedir. Bu yüzden ateroskleroz riskini değerlendirmek için spesifik olmayan inflamatuvar belirteçlerin kandaki düzeyi önemli hale gelmiştir. Çalışmamızın sonucunda koroner arter hastalarında inflamatuvar belirteçlerden biri olan IL-6 düzeyinin yüksek bulunması IL-6'nın KAH riskini artırdığını

göstermektedir. Bunun sebebinin ise doku hasarı ve inflamasyona cevap olarak üretilen IL-6'nın inflamatuvar belirteçleri uyararak ateroskleroza tetiklediği ve bunun sonucunda ise KAH gelişimine neden olduğunu düşünmekteyiz.

İskemik hastalıklar, infeksiyon, malign neoplazmalar ve travmayı içeren doku hasarı ile karakterize klinik durumlarda artan IL-6 konsantrasyonlarına yanıt olarak karaciğerde üretilen CRP, hepatositler dışında sitokinlere bölgesel bir yanıt olarak koroner arterlerin düz kaslarında da sentezlenmektedir (125, 172). Artan kanıtlar CRP'nin güçlü inflamatuvar bir belirteç olmasının yanısıra aterojenezin inflamatuvar sürecine direkt olarak katılabileceğini düşündürmektedir (181). Günümüzde CRP, KAH için bir risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (182). 2003 yılında Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) ile Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA) tarafından, hs-CRP ölçümünün inflamasyonun sensitif bir göstergesi olduğu ve kardiyovasküler risk değerlendirmesinde diğer kanıtlanmış risk faktörlerine ilave edilebileceği açıklanmıştır (137). Cozlea ve ark. (123) yaptığı çalışmada yüksek CRP değerlerinin kardiyovasküler hastalık risk artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Sabatine ve ark. (183) stabil KAH olan hastaların 4.8 yıllık takibinde, hs-CRP düzeyi 3 mg/L üzerinde olanlarda kardiyovasküler olay gelişiminin % 78 arttığını bildirmişlerdir. Inoue ve ark. (184) akut koroner sendromdan sorumlu lezyonun distal ve proksimalinden örneklenen koroner arter kan örneklerindeki CRP gradiyentinin varlığı ile CRP'nin sorumlu plak bölgesinde üretildiğini göstermiştir.

Bizim çalışmamızda ise KAH grubundaki hsCRP düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Sonuçlarımız; Anderson ve ark. (185), Lai ve ark. (186), Habib ve ark. (187), Piranfar (188), Shaid ve ark. (189) tarafından yapılan çalışmaların ve diğer birçok çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu olarak bulunmuştur. Kronik inflamasyon, aterosklerozun gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir bileşendir. İnflamasyon sonucu üretilen CRP'nin, endotel hücrelerinden NO sentezini inhibe ederek, PAI-1 aktivitesini artırarak ve özellikle LDL ile kompleks oluşturması sonucu sitokin ve adezyon moleküllerinin üretimini artırarak aterosklerozun gelişiminde önemli bir rol oynadığını düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda tek damar grubuna göre çok damar grubunda bulunan hastalarda hsCRP ve IL-6 düzeylerinin anlamlı şekilde yüksek

olması, bu inflamatuvar belirteçlerin KAH'nın derecesi ile bağlantılı olduğunu göstermektedir.

Yüksek dansiteli lipoproteinler; kolesterolün periferik dokulardan karaciğere aktarılması işlemi olan tersine kolesterol transportunda önemli bir rol oynar (48). Yüksek dansiteli lipoproteinlerdeki her 1 mg/dL'lik artış, sırasıyla erkek ve kadınlardaki kardiyovasküler riskte % 2 ve % 3 azalmaya neden olmaktadır (190). Zargar ve ark. (191) HDL düzeylerinin KAH'da sağlıklı bireylere göre daha düşük olduğunu ve bu düşüklük ile ABCA1 gen polimorfizmi arasında bir ilişkinin olmadığını göstermiştir. Kanjuh ve ark. (192) yaptıkları çalışmada tedavi amacıyla HDL düzeylerinin artırılması ve LDL düzeylerinin azaltılması sonucunda ateroskleroz gelişiminin yavaşlayacağını, aterosklerotik plakların stabil hale geleceğini hatta plaklarda kısmi gerilemenin olabileceğini öne sürmüştür. Van den Bogaard ve ark. (106) ise yaptıkları bir çalışmada LCAT mutasyonu taşıyıcılarında HDL düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise KAH grubundaki HDL düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuş olup, bu sonuç istatistiksel açıdan anlamlı olarak tanımlanmıştır ($p<0.05$). Yüksek yoğunluklu lipoprotein'in şu etkileri göstererek koroner arter hastalığına karşı koruyucu rol aldığını düşünmekteyiz.

1. Periferik dokulardan karaciğere kolesterol taşınmasında rol alarak dokulardaki kolesterolün miktarını azaltır.
2. Platelet adezyonunu inhibe eder.
3. Anti-inflamatuvar etki gösterir.
4. Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu inhibe eder.
5. Endotelial onarımı stimüle eder.

Bu çalışmada KAH risk faktörü olarak bilinen LDL'nin düzeyleri de değerlendirildi. Koroner arter hastalığı grubu ve kontrol grubu arasında LDL düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görüldü. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Yang ve ark.'da (193) yaptıkları bir çalışmada koroner arter hastalarında LDL düzeylerinin kontrole göre değişmediğini göstermişlerdir. Nicholls ve ark. (194) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise bir antihiperlipidemik ilaç olan statin türevi ilaçların kullanımı sonrasında LDL düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Aslında daha önce yapılan çalışmalar sonucunda

KAH ile LDL arasında güçlü pozitif bir ilişkinin olduğu bilinmektedir (50). Buna rağmen bizim çalışmamızda koroner arter hastalarıyla kontrol grubu LDL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmamasının koroner arter hastalarının kolesterol düşürücü ilaç kullanımından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda koroner arter hastalarında TG düzeylerinin değişimi de araştırılmıştır. Trigliserid düzeyleri tek ve çok damar grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir. Birçok çalışma, TG düzeylerinin KAH olanlarda arttığını rapor etmiş olup (191, 193, 195) çalışmamızda da benzer sonuçlar saptanmıştır. Serum TG düzeylerindeki artışın HDL düzeyinde azalmaya ve LDL düzeyinde ise artışa neden olarak KAH gelişiminde rol aldığını düşünmekteyiz.

Karaciğer tarafından sentezlenip plazmaya sekrete edilen LCAT, kolesterol hemostazını sağlayan ve kanda taşınmasını düzenleyen anahtar bir enzimdir. Lesitin kolesterol açiltransferaz, HDL metabolizmasının yanı sıra ters kolesterol taşınmasında önemli bir rol oynamaktadır (196). Ters kolesterol taşınımı birden fazla basamak içerir. Bunlar sırasıyla; serbest kolesterolün hücrelerden HDL'ye aktarımı, HDL'de serbest kolesterolün LCAT enzimi tarafından esterleştirilmesi ve ester kolesterolün, kolesterol ester transfer protein aracılığı ile Apo B içeren lipoproteinlere transferidir (100). Lesitin kolesterol açiltransferaz eksikliği olan hastalarda HDL eksikliği ve kusurlu ters kolesterol taşınımı nedeniyle artmış kardiyovasküler hastalık riski vardır. Bu nedenle, LCAT eksikliği olan hastalarda daha fazla ateroskleroz ve kardiyovasküler olayların olması beklenir (11). Holleboom ve ark. (197) LCAT mutasyonu olan bireylerde; LCAT aktivitesinin, HDL düzeyinin, Apo A-I'in ve HDL'nin antioksidatif potansiyelinin önemli ölçüde azaldığını saptamıştır. Simonelli ve ark. (198) familial LCAT eksikliği olan hastalara verilen rekombinant insan LCAT enziminin HDL düzeylerinde önemli bir artışa neden olduğunu ve küçük pre β -HDL'nin maturasyonunu indüklediğini göstermiştir.

Bizim çalışmamızda ise KAH grubundaki LCAT düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuş olup, bu sonuç istatistiksel açıdan anlamlı olarak tanımlanmıştır ($p<0.05$). Yüksek yoğunluklu lipoprotein içindeki kolesterolün esterleşmesinden ve HDL maturasyonundan sorumlu olan LCAT düzeyinin düşüklüğü sonucunda ters kolesterol taşınımının engellendiği ve okside fosfotidilkolinin dolaşımdaki LDL partikülleri üzerinde birikmesinden dolayı

ateroskleroz ve KAH gelişim riskinin arttığı kanaatindeyiz. Çalışmamızda; LCAT düzeyi ile HDL arasında pozitif bir ilişkinin varlığı saptanmıştır ($r:0.342, p<0.001$).

Koroner arter hastalığı gelişiminde genetik faktörlerin rolü % 20-60' arasında değişmektedir (199). Daha önce yapılan çalışmalar KAH ve MI için aday lokus ve genlerin önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır (18). Lesitin kolesterol açıltransferaz enzimini kodlayan genin de bunlardan biri olduğu düşünülmektedir. Bugüne kadar LCAT geninde sadece 4 tek nükleotid polimorfizmi (SNP) rapor edilmiştir. Bunlar 608 C/T, 911 T/C, 4886 C/T, 511 C/T'dir (84, 108). Lesitin kolesterol açıltransferaz 4886 C/T ve 608 C/T polimorfizmleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu çalışmada Türk toplumundaki koroner arter hastalarında bu polimorfizmlerin LCAT düzeyi ile HDL düzeylerine ne derece katkıda bulunduğu ve hsCRP ve IL-6 gibi inflamatuvar belirteçlerle ilişkisi ilk kez araştırılmıştır.

Zhu ve ark. (200) aterosklerotik serebral infarktüsli hastalarda LCAT 608 C/T polimorfizmleriyle ilgili yapmış oldukları çalışmada, bu polimorfizmin aterosklerotik serebral infarktüsli hastalarda sık gözleendiğini ve 608C/T polimorfizminin azalmış HDL düzeyleriyle ilgili olduğunu açıklamıştır. Zhang ve ark. (201) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise koroner arter hastalarındaki LCAT 608 T allel sıklığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ağırbaşı ve ark.(58) tarafından ülkemizde yapılan bir çalışmada; HDL düzeyleri azalmış olan hasta grubundaki kişilerden sadece birinde ve HDL düzeyleri artmış olan katılımcılardan da sadece birinde C/T genotipi saptanmış olduğundan LCAT 608 C/T polimorfizmine ülkemizde rastlanmadığı açıklanmıştır.

Bizim çalışmamızda da LCAT 608 C/T polimorfizmine rastlanmamış olup bu polimorfizmin KAH ile ilişkisinin olmadığı bulunmuştur. Çalışmamızda; KAH ve kontrol gruplarında sadece homozigot genotip (CC) görülmüş olup heterozigot genotip veya homozigot mutant genotipe rastlanmamıştır. Diğer toplumlarda tespit edildiği halde Türk toplumunda bu polimorfizmin görülmemesinin nedeni muhtemelen ırk ve etnik kökene bağlı olarak değişen genetik yapıdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Lesitin kolesterol açıltransferaz geninde görülebilen diğer bir SNP ise 4886 C/T polimorfizmidir. Recalde ve ark.'nın (108) yaptığı bir çalışmada düşük HDL düzeyleri ve hipoalfalipoproteinemi ile LCAT 4886 C/T polimorfizmi arasındaki

ilişkisi araştırılmış olup istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. Pisciotta ve ark. (202) tarafından yapılan bir çalışmada; LCAT geni ekzon 6 mutasyonu taşıyıcılarında LCAT kütle ve aktivitesiyle birlikte kolesterol esterifikasyon oranının da düşük olduğu saptanmış ve LCAT mutasyonunun HDL ve Apo A-I düşüklüğü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ağırbaşı ve ark.(58) tarafından yapılan bir çalışmada ise LCAT 4886 C/T polimorfizminin literatürlerde belirtildiğinden daha sık gözlemlendiği ve düşük HDL değerleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Abd El-Aziz ve ark.'nın (17) 2014 yılında yaptıkları bir başka çalışmada ise LCAT 4886 C/T gen polimorfizmi taşıyan HDL düzeyi düşük hastalarda KAH riskinin arttığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ise LCAT 4886 C/T polimorfizmi ile KAH arasında istatistiksel yönden bir anlamlılık bulunmuştur. Lesitin kolesterol açıltransferaz geninin 4886. pozisyonundaki artan T allel sıklığı büyük olasılıkla HDL metabolizmasını ve ters kolesterol taşınmasını etkilemektedir. Yüksek yoğunluklu lipoprotein azalması ve dokularda biriken kolesterolün artmasına bağlı olarak ateroskleroz gelişimi tetiklendiğinden LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin koroner arter hastalığı için predispozan bir faktör olduğunu düşünmekteyiz.

Türk toplumunda sağlıklı bireyler ve koroner arter hastalığı olan kişilerde LCAT 4886 C/T ve LCAT 608 C/T gen polimorfizm sıklığını ve bu polimorfizmlerin IL-6 ve hsCRP gibi inflamatuvar belirteçlerle olan ilişkisini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışma koroner arter hastalığı patogenezinde bu polimorfizmlerin ne derece etkili olduğunu göstermesi açısından önemlidir. Bu çalışmada; koroner arter hastalarında serum IL-6 ve hsCRP düzeyleri ile LCAT 4886 C/T gen polimorfizmi mutant T allel sıklığının arttığı buna karşılık serum LCAT ve HDL düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca LCAT 4886 C/T gen polimorfizmi genotip ve allel dağılımı ile serum LCAT, IL-6 ve hsCRP düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde, koroner arter hastalığı çok damar grubundaki TT genotipindeki LCAT düzeylerinin CC genotipine göre anlamlı ölçüde düşük olduğu ve LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin IL-6 ve hsCRP düzeyleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Sonuçlarımızın diğer çalışmalar ile benzer ve farklı sonuçlar içermesinin sebebi çalışılan grupların genetik farklılığından, çevresel faktörlerden,

kullanılan ilaçlardan ve allel frekansları arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı kanaatindeyiz.

Sonuç olarak; bulgularımız ışığında LCAT 4886 C/T gen polimorfizminin koroner arter hastalığı patogeneğinde önemli bir rolü olduğunu, çalışmanın daha büyük kontrol ve hasta grupları ile farklı etnik gruplarda diğer risk faktörlerini de içerecek şekilde tekrarlanmasının bu gen polimorfizminin koroner arter hastalıkları patogeneğinin aydınlatılmasına, hastalığın önlenmesine ve tedavisine katkı sağlayacağını ayrıca hastalığın tanı ve tedavi giderlerinin azaltılmasına bağlı olarak ekonomik kayıpları önleyeceğini düşünmekteyiz.

5. KAYNAKLAR

1. Canbay A, Akar N, Kayhan T, Erdoğan N, Şahin D, Diker E, et al. Koroner arter hastalığı anjiyografiyle kanıtlanmış olgularda multidedektör bilgisayarlı tomografinin tanısal doğruluğu. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2006; 34: 16-21.
2. Hata J, Kiyohara Y. Epidemiology of stroke and coronary artery disease in Asia. *Circ J* 2013; 77: 1923-1932.
3. Şahin DY, Koç M, Çaylı M, Uysal OK, Karaarslan O, Kanadaşı M, et al. Kararlı koroner arter hastalığı olanlarda modifiye tromboelastogram yöntemi ile aspirin direnci sıklığı ve klinik ve laboratuvar bulgularla ilişkisi. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2012; 40: 33-40.
4. Onat A, Yüksel M, Köroğlu B, Gümrükçüoğlu HA, Aydın M, Çakmak A, et al. TEKHARF 2012: Genel ve koroner mortalite ile metabolik sendrom prevalansı eğilimleri. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2013; 41: 373-378.
5. Onat A, Çakır H, Karadeniz Y, Dönmez İ, Karagöz A, Yüksel M, et al. TEKHARF 2013 taraması ve diyabet prevalansında hızlı artış. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2014; 42: 511-516.
6. Seidman MA, Mitchell RN, Stone JR. Pathophysiology of Atherosclerosis. Willis MS, Homeister JW, Stone JR (editors). *Cellular And Molecular Pathobiology Of Cardiovascular Disease*. Kindle Edition, San Diego: Elsevier Inc., 2014: 221-237.
7. Stone JR. Pathology of myocardial infarction, coronary artery disease, plaque disruption, and the vulnerable atherosclerotic plaque. *Diag Histopathol* 2012; 18: 478-483.
8. Tokgözoğlu L. Ateroskleroz ve enflamasyonun rolü. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2009; 37: 1-6.

9. Mallika V, Goswami B, Rajappa M. Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. *Angiology* 2007; 58: 513-522.
10. Koukkunen H, Penttilä K, Kemppainen A, Halinen M, Penttila I, Rantanen T, et al. C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha in the prognostic classification of unstable angina pectoris. *Ann Med* 2001; 33: 37-47.
11. Savel J, Lafitte M, Pucheu Y, Pradeau V, Tabarin A, Couffignal T. Very low levels of HDL cholesterol and atherosclerosis, a variable relationship--a review of LCAT deficiency. *Vasc Health Risk Manag* 2012; 8: 357-361.
12. Borggreve SE, de Vries R, Dullaart RPF. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin: cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 1051-1069.
13. Peelman F, Vandekerckhove J, Rosseneu M. Structure and function of lecithin cholesterol acyltransferase: new insights from structural predictions and animal models. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11: 155-160.
14. Ohashi R, Mu H, Wang X, Yao Q, Chen C. Reverse cholesterol transport and cholesterol efflux in atherosclerosis. *Q J Med* 2005; 98: 845-856.
15. Blumenthal RS, Foody JM, Wong ND (editors). *Preventive Cardiology: Companion to Braunwald's Heart Disease*. 1st edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011.
16. Kaya MG. Inflammation and coronary artery disease: as a new biomarker neutrophil/lymphocyte ratio. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2013; 41: 191-192.
17. Abd El-Aziz TA, Mohamed RH, Hagrass HA. Increased risk of premature coronary artery disease in Egyptians with ABCA1 (R219K), CETP (TaqIB), and LCAT (4886C/T) genes polymorphism. *J Clin Lipidol* 2014; 8: 381-389.

18. Liu Y, Niu W, Wu Z, Su X, Chen Q, Lu L, et al. Variants in exon 11 of MEF2A gene and coronary artery disease: evidence from a case-control study, systematic review, and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e31406.
19. Yan P, Sun B, Shi H, Zhu W, Zhou Q, Jiang Y, et al. Left Atrial and Right Atrial Deformation in Patients with Coronary Artery Disease: A Velocity Vector Imaging-Based Study. *PLoS ONE* 2012; 7: e51204.
20. Onat A, Keles İ, Çetinkaya A, Başar Ö, Yıldırım B, Erer B, et al. On yıllık TEKHARF çalışması verilerine göre Türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olayların prevalansı yüksek. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2001; 29: 8-19.
21. Murphy JG, Lloyd MA. *Mayo Clinic Cardiology*. Erol Ç (Çeviri Editörü). 3. Baskı. Ankara. Güneş Tıp Kitabevleri 2008: 685-770.
22. Murphy AJ, Dragoljevic D, Tall AR. Cholesterol efflux pathways regulate myelopoiesis: a potential link to altered macrophage function in atherosclerosis. *Front Immunol* 2014; 5: 490.
23. DePalma RG. Atherosclerosis: Pathology, Pathogenesis, and Medical Management. Moore WS (editor). *Vascular And Endovascular Surgery A Comprehensive Review*. Eighth Edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2013: 88-101.
24. Yang E, Vargas JD, Bluemke DA. Understanding the genetics of coronary artery disease through the lens of noninvasive imaging. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2012; 10: 27-36.
25. Murray MT. Atherosclerosis. Pizzorno JE, Murray MT (editors). *Textbook of Natural Medicine*. Fourth Edition, Missouri: Elsevier Churchill Livingstone 2013: 1225-1245.
26. Lieberman M, Marks A, Peet A. *Lipid Metabolism*. Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach. Fourth Edition, Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 2013: 583-692.

27. Lusic AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-241.
28. Stojanovska J, Patel S. Coronary Anatomy. Ho VB, Reddy GP (editors). *Cardiovascular Imaging. Volume I*, Missouri: Elsevier Saunders, 2011: 38-56.
29. Paulsen F. Viscera of the Thorax. Paulsen F, Waschke J (editors). *Sobotta - Atlas of Human Anatomy: Internal Organs Volume 2. Fifteenth Edition*, Munich: Elsevier Urban & Fischer, 2013: 1-68.
30. Kadı H, Ceyhan K, Karayakalı M, Koç F, Çelik A, Önalın O. Koroner kolateral dolaşım ile serum yüksek duyarlıklı C-reaktif protein düzeyleri arasındaki ilişki. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2011; 39: 23-28.
31. Purcell HJ, Kalra PR. *Kardiyoloji. İlerigelen B (Çeviri Editörü) 1. Baskı*, İstanbul. İstanbul Tıp Kitabevi 2009: 82-102.
32. Pakkal M, Raj V, McCann GP. Non-invasive imaging in coronary artery disease including anatomical and functional evaluation of ischaemia and viability assessment. *Br J Radiol* 2011; 84: 280-295.
33. de Jong MC, Genders TS, van Geuns RJ, Moelker A, Hunink MG. Diagnostic performance of stress myocardial perfusion imaging for coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol* 2012; 22: 1881-1895.
34. Crawford MH, DiMarco JP, Paulus WJ (editors). *Cardiology. Third edition*, Philadelphia: Elsevier Mosby, 2010.
35. Remaley AT, Rifai N, Warnick GR. Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors). *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics. Fifth edition*, Missouri: Elsevier Saunders, 2012: 731-805.
36. Third Report of National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106: 3143-3421.

37. Yang H, Mohamed AS, Zhou SH. Oxidized low density lipoprotein, stem cells, and atherosclerosis. *Lipids Health Dis* 2012; 11: 85.
38. Dullaart RPF, Perton F, van der Klauw MM, Hillege HL, Sluiter WJ. High plasma lecithin: cholesterol acyltransferase activity does not predict low incidence of cardiovascular events: Possible attenuation of cardioprotection associated with high HDL cholesterol. *Atherosclerosis* 2010; 208: 537-542.
39. Tezcan S, Altintas H, Sonmez R, Akinci A, Dogan B, Cakir B. Cardiovascular risk factor levels in a lower middle-class community in Ankara, Turkey. *Trop Med Int Health* 2003; 8: 660-667.
40. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004; 110: 227-239.
41. Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J (editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Eighteenth Edition, USA: McGraw-Hill, 2012.
42. The International Chair on Cardiometabolic Risk, 2007 (<http://www.myhealthywaist.org>)
43. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. *Lippincott's Illustrated Reviews* serisinden: *Biyokimya*. Ulukaya E (Çeviri editörü). 3. Baskı İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri 2007: 217-242.
44. Forti N, Diament J. High-density lipoproteins: metabolic, clinical, epidemiological and therapeutic intervention aspects. An update for clinicians. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 87: 671-679.
45. Gürdöl F, Ademoğlu E. *Biyokimya*, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2010: 243-295.

46. Soh J, Josekutty J, Hussain MM. Lipids And Dyslipoproteinemia. McPherson RA, Pincus MR (editors). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Twenty-Second edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011: 227-247.
47. Besler C, Lüscher TF, Landmesser U. Molecular mechanisms of vascular effects of High-density lipoprotein: alterations in cardiovascular disease. *EMBO Mol Med* 2012; 4: 251-268.
48. Zheng C, Aikawa M. High-density lipoproteins: from function to therapy. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60: 2380-2383.
49. Ballantyne CM (editor). *Clinical Lipidology: A Companion To Braunwald's Heart Disease*. 1st edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2009.
50. Wu Z, Lou Y, Qiu X, Liu Y, Lu L, Chen Q, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene polymorphism, high density lipoprotein cholesterol and risk of coronary artery disease: a meta-analysis using a Mendelian randomization approach. *BMC Med Genet* 2014; 15: 118.
51. Sethi AA, Sampson M, Warnick R, Muniz N, Vaisman B, Nordestgaard BG, et al. High pre-beta1 HDL concentrations and low lecithin: cholesterol acyltransferase activities are strong positive risk markers for ischemic heart disease and independent of HDL-cholesterol. *Clin Chem* 2010; 56: 1128-1137.
52. Boes E, Coassin S, Kollerits B, Heid IM, Kronenberg F. Genetic-epidemiological evidence on genes associated with HDL cholesterol levels: a systematic in-depth review. *Exp Gerontol* 2009; 44: 136-160.
53. Moradi H, Yuan J, Ni Z, Norris K, Vaziri ND. Reverse cholesterol transport pathway in experimental chronic renal failure. *Am J Nephrol* 2009; 30: 147-154.
54. Oram JF, Lawn RM. ABCA1. The gatekeeper for eliminating excess tissue cholesterol. *J Lipid Res* 2001; 42: 1173-1179.

55. Kunnen S, Van Eck M. Lecithin:cholesterol acyltransferase: old friend or foe in atherosclerosis? *J Lipid Res* 2012; 53: 1783-1799.
56. Sticozzi C, Belmonte G, Cervellati F, Muresan XM, Pessina F, Lim Y, et al. Resveratrol protects SR-B1 levels in keratinocytes exposed to cigarette smoke. *Free Radic Biol Med* 2014; 69: 50-57.
57. Rashid S, Marcil M, Ruel I, Genest J. Identification of a novel human cellular HDL biosynthesis defect. *Eur Heart J* 2009; 30: 2204-2212.
58. Agirbasli D, Cirakoglu B, Eren F, Sumerkan M, Aksoy S, Aral C, Agirbasli M. Effects of lecithin: Cholesterol acyltransferase genotypes, enzyme levels, and activity on high-density lipoprotein levels. *Journal of Clinical Lipidology* 2011; 5: 152–158.
59. Uehara Y, Saku K. High-density lipoprotein and atherosclerosis: Roles of lipid transporters. *World J Cardiol* 2014; 6: 1049-1059.
60. Spillmann F, Schultheiss HP, Tschöpe C, Van Linthout S. High-density lipoprotein-raising strategies: update 2010. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 1517-1530.
61. Agirbasli M, Ciliv G, Cakir S, Srinivasan S, Berenson GS, Ozme S. Body mass index and lipid levels in children from Ankara, Turkey versus Bogalusa, Louisiana. *Prev Med* 2005; 41: 843–845.
62. Libby P. Atherosclerosis. Creager MA, Beckman JA, Loscalzo J (editors). *Vascular Medicine: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Second edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2013: 111-125.
63. Klag MJ. *Epidemiology Of Cardiovascular Disease*. Goldman L, Schafer AI (editors). *Goldman's Cecil Medicine*. Twenty-fourth edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012.

64. Görenek B, Birdane A, Ünalır A. Kadınlarda koroner arter hastalığı: risk faktörleri, klinik tablolar, tanı ve tedavi yaklaşım farklılıkları. Türk Kardiyol Dern Arş 2000; 28: 60-69.
65. Engberding N, Wenger NK. Cardiovascular disease prevention tailored for women. Expert review of Cardiovascular Therapy 2008; 6: 1123-1134.
66. Ford ES, Copewell S. Coronary heart disease mortality among young adults in the U.S. from 1980 through 2002: concealed leveling of mortality rates. J Am Coll Cardiol 2007; 50: 2128-2132.
67. Çengel A. Kadınlarda kardiyovasküler risk faktörleri. Türk Kardiyol Dern Arş 2010; 38: 17-24.
68. Abacı A. Kardiyovasküler risk faktörlerinin ülkemizdeki durumu. Türk Kardiyol Dern Arş 2011; 39: 1-5.
69. Kayrak M, Ülgen MS, Koç F, Soylu A. Koroner arterleri normal olan bir hastada sigara ve ksilometazolin kullanımının tetiklediği akut miyokard infarktüsü. Türk Kardiyol Dern Arş 2006; 34: 304-307.
70. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, et al. Effect of exercise on coronary endotelialfunction in patients with coronary artery disease. N Eng J Med 2000; 342; 454-460.
71. Jahangir E, De Schutter A, Lavie CJ. The relationship between obesity and coronary artery disease. Transl Res 2014; 164: 336-344.
72. Hurt's The Heart. Valentin Fuster, R. Wayne Alexander, Robert O'Rourke. 10. Baskısının Türkçe çevirisi. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd.Şti. 1. Basım. 2002; 1065-1109.
73. Ho PK, Feng LJ. Screening for Cardiovascular Disease and Risk Factors. MOH Clinical Practice Guidelines 1. Singapore: Ministry of Health 2011: 3-101.

74. Lian XQ, Zhao D, Zhu M, Wang ZM, Gao W, Zhao H, et al. The influence of regular walking at different times of day on blood lipids and inflammatory markers in sedentary patients with coronary artery disease. *Prev Med* 2014; 58: 64-69.
75. Ersanlı M. Dislipidemi tedavisinde statinlerin önemi. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2007; 35: 1-7.
76. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135-1143.
77. Andrassy M, Volz HC, Schuessler A, Gitsioudis G, Hofmann N, Laohachewin D, et al. HMGB1 is associated with atherosclerotic plaque composition and burden in patients with stable coronary artery disease. *PLoS One* 2012; 7: e52081.
78. Falk E, Fuster V. Atherogenesis and its Determinants. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA, Hurst's The Heart. 10th ed. USA. International Edition McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2000; 35: 1065-1093.
79. Patterson C, Runge MS. Coronary Atherosclerosis. Runge MS, Stouffer GA, Patterson C (editors). *Netter's Cardiology*. Second edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2010: 15-21.
80. Wang T, Palucci D, Law K, Yanagawa B, Yam J, Butany J. Atherosclerosis: pathogenesis and pathology. *Diag Histopathol* 2012; 18: 461-467.
81. Asztalos BF, Schaefer EJ, Horvath KV, Yamashita S, Miller M, Franceschini G, et al. Role of LCAT in HDL remodeling: investigation of LCAT deficiency states. *J Lipid Res* 2007; 48: 592-599.
82. Rousset X, Vaisman B, Amar M, Sethi AA, Remaley AT. Lecithin: cholesterol acyltransferase--from biochemistry to role in cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16: 163-171.

83. Duivenvoorden R, Holleboom AG, van den Bogaard B, Nederveen AJ, de Groot E, Hutten BA, et al. Carriers of lecithin cholesterol acyltransferase gene mutations have accelerated atherogenesis as assessed by carotid 3.0-T magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 2481-2487.
84. Zhang K, Zhang S, Zheng K, Hou Y, Liao L, He Y, et al. Novel P143L polymorphism of the LCAT gene is associated with dyslipidemia in Chinese patients who have coronary atherosclerotic heart disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2004; 318: 4-10.
85. Holleboom AG, Kuivenhoven JA, Peelman F, Schimmel AW, Peter J, Defesche JC, et al. High prevalence of mutations in LCAT in patients with low HDL cholesterol levels in The Netherlands: identification and characterization of eight novel mutations. *Hum Mutat* 2011; 32: 1290-1298.
86. Dergunov AD. Kinetic analysis of lecithin: cholesterol acyltransferase activity toward discoidal HDL. *Lipids* 2011; 46: 1075–1079.
87. Park CW, Lim MH, Youn DY, Jung SE, Chung S, Ahn YS, et al. Two novel frame shift mutations in lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) gene associated with a familial LCAT deficiency phenotype. *Atherosclerosis* 2009; 206: 346-348.
88. Zhao Y, Gebre AK, Parks JS. Amino acids 149 and 294 of human lecithin: cholesterol acyltransferase affect fatty acyl specificity. *J Lipid Res* 2004; 45: 2310-2316.
89. Lima VLM, Coelho LCBB, Kennedy JF, Owen JS, Dolphin PJ. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) as a plasma glycoprotein: an overview. *Carbohydrate Polymers* 2004; 55: 179–191.
90. Nakhjavani M, Morteza A, Karimi R, Banihashmi Z, Esteghamati A. Diabetes induces gender gap on LCAT levels and activity. *Life Sci* 2013; 92: 51-54.

91. Ng DS. The role of lecithin: cholesterol acyltransferase in the modulation of cardiometabolic risks - a clinical update and emerging insights from animal models. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1821: 654-659.
92. Tanigawa H, Billheimer JT, Tohyama J, Fuki IV, Ng DS, Rothblat GH, et al. Lecithin: cholesterol acyltransferase expression has minimal effects on macrophage reverse cholesterol transport in vivo. *Circulation* 2009; 120: 160-169.
93. Subbaiah PV, Jiang XC, Belikova NA, Aizezi B, Huang ZH, Reardon CA. Regulation of plasma cholesterol esterification by sphingomyelin: effect of physiological variations of plasma sphingomyelin on lecithin-cholesterol acyltransferase activity. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1821: 908-913.
94. Liu Yh, Wu Js, Wang Zy, Yu Ch, Ying Hz, Xu Ny. Characteristic, polymorphism and expression distribution of LCAT gene in a Mongolian gerbil model for hyperlipidemia. *Exp Mol Pathol* 2014; 97: 266-272.
95. Roshan B, Ganda OP, Desilva R, Ganim RB, Ward E, Haessler SD, et al. Homozygous lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency due to a new loss of function mutation and review of the literature. *J Clin Lipidol* 2011; 5: 493-499.
96. Recalde D, Cenarro A, Garcia-Otin AL, Gomez-Coronado D, Civeira F, Pocovi M. Analysis of apolipoprotein A-I, lecithin: cholesterol acyltransferase and glucocerebrosidase genes in hypoalphalipoproteinemia. *Atherosclerosis* 2002; 163: 49-58.
97. Calabresi L, Franceschini G. Lecithin: cholesterol acyltransferase, high-density lipoproteins, and atheroprotection in humans. *Trends Cardiovasc Med* 2010; 20: 50-53.
98. Conca P, Pileggi S, Simonelli S, Boer E, Boscutti G, Magnolo L, et al. Novel missense variants in LCAT and APOB genes in an Italian kindred with familial

- lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency and hypobetalipoproteinemia. *J Clin Lipidol* 2012; 6: 244-250.
99. Sorci-Thomas MG, Bhat S, Thomas MJ. Activation of lecithin: cholesterol acyltransferase by HDL ApoA-I central helices. *Clin Lipidol* 2009; 4: 113-124.
 100. Serdar Z, Dirican M, Yeşilbursa D, Serdar A, Sarandöl E. Investigation of lecithine: Cholesterol acyltransferase and cholesterol ester transfer protein activities in coronary artery disease. *Cerrahpaşa J Med* 2002; 33: 171-178.
 101. Holleboom AG, Kuivenhoven JA, Vergeer M, Hovingh GK, van Miert JN, Wareham NJ, et al. Plasma levels of lecithin: cholesterol acyltransferase and risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women: a prospective case-control analysis nested in the EPIC-Norfolk population study. *Journal of Lipid Research* 2010; 51: 416-421.
 102. Chen Z, Wang SP, Krsmanovic ML, Castro-Perez J, Gagen K, Mendoza V, et al. Small molecule activation of lecithin cholesterol acyltransferase modulates lipoprotein metabolism in mice and hamsters. *Metabolism* 2012; 61: 470-481.
 103. Baass A, Wassef H, Tremblay M, Bernier L, Dufour R, Davignon J. Characterization of a new LCAT mutation causing familial LCAT deficiency (FLD) and the role of APOE as a modifier gene of the FLD phenotype. *Atherosclerosis* 2009; 207: 452-457.
 104. Fazio S, Linton MF. Low levels of high-density lipoprotein cholesterol due to lecithin: cholesterol acyltransferase mutations increase carotid atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 2488-2490.
 105. Wang XL, Osuga J, Tazoe F, Okada K, Nagashima S, Takahashi M, et al. Molecular analysis of a novel LCAT mutation (Gly179 → Arg) found in a patient with complete LCAT deficiency. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18: 713-719.

106. van den Bogaard B, Holleboom AG, Duivenvoorden R, Hutten BA, Kastelein JJ, Hovingh GK, et al. Patients with low HDL-cholesterol caused by mutations in LCAT have increased arterial stiffness. *Atherosclerosis* 2012; 225: 481-485.
107. Calabresi L, Simonelli S, Gomasaschi M, Franceschini G. Genetic lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2012; 222: 299-306.
108. Recalde D, Cenarro A, Civeira F, Garcia-Otin AF, Pocovi M. A novel DNA polymorphism (4886C >T) in the human LCAT gene. *Hum. Mut* 2000; 15: 298-299.
109. Bansal T, Pandey A, D D, Asthana AK. C-Reactive Protein (CRP) and its Association with Periodontal Disease: A Brief Review. *J Clin Diagn Res* 2014; 8: ZE21-4.
110. Ramamoorthy RD, Nallasamy V, Reddy R, Esther N, Maruthappan Y. A review of C-reactive protein: A diagnostic indicator in periodontal medicine. *J Pharm Bioallied Sci* 2012; 4: 422-426.
111. Ghaffari MA, Askari Sede S, Rashtchizadeh N, Mohammadzadeh G, Majidi S. Association of CRP gene polymorphism with CRP levels and Coronary Artery Disease in Type 2 Diabetes in Ahvaz, southwest of Iran. *Bioimpacts* 2014; 4: 133-139.
112. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. Effect of C-reactive protein on vascular cells evidence for a proinflammatory, proatherogenic role. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2005; 14: 33-37.
113. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111: 1805-1812.
114. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002; 106: 913-919.

115. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *The Journal of Biological Chemistry* 2004; 279: 48487-48490.
116. Aas V, Sand KL, Asheim HC, Benestad HB, Iversen JG. C-reactive protein triggers calcium signalling in human neutrophilic granulocytes via FcγRIIa in an allele-specific way. *Scand J Immunol* 2013; 77: 442-451.
117. Raaz-Schrauder D, Ekici AB, Klinghammer L, Stumpf C, Achenbach S, Herrmann M, et al. The proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells depends on the FcγRIIa genotype. *Thromb Res* 2014; 133: 426-432.
118. Hage FG, Szalai AJ. C-reactive protein gene polymorphisms, C-reactive protein blood levels, and cardiovascular disease risk. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1115-1122.
119. Douraiswami B, Dilip PK, Harish BN, Jagdish M. C-reactive protein and interleukin-6 levels in the early detection of infection after open fractures. *J Orthop Surg* 2012; 20: 381-385.
120. Das S, Roy S, Kaul S, Jyothy A, Munshi A. CRP gene (1059G>C) polymorphism and its plasma levels in ischemic stroke and hemorrhagic stroke in a south Indian population. *Inflammation* 2014; 37: 1683-1688.
121. Giles JT, Bartlett SJ, Andersen R, Thompson R, Fontaine KR, Bathon JM. Association of body fat with C-reactive protein in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2632-2641.
122. Kotłęga D, Nowacki P, Białecka M, Kurzawski M, Drożdżik M, Cieciewicz S. Association between CRP gene polymorphism 717A/G, C-reactive protein and neurological deficit in ischemic stroke. *J Clin Neurosci* 2014; 21: 574-577.
123. Cozlea DL, Farcas DM, Nagy A, Keresztesi AA, Tifrea R, Cozlea L, et al. The impact of C reactive protein on global cardiovascular risk on patients with coronary artery disease. *Curr Health Sci J* 2013; 39: 225-231.

124. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension* 2004; 44: 6–11.
125. Calabro P, Chang D, Willerson JT, Yeh ET. Release of C-reactive protein in response to inflammatory cytokines by human adipocytes: linking obesity to vascular inflammation. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1112–1113.
126. Bonvini RF, Hendiri T, Camenzind E. Inflammatory response post-myocardial infarction and reperfusion: a new therapeutic target? *Eur Heart J Suppl* 2005; 7: 127-136.
127. Martin-Du Pan RC, Despont JP. High sensitive C-reactive protein: a new risk factor of coronary disease. *Rev Med Suisse Romande* 2002; 122: 163-166.
128. Rezaieyazdi Z, Sahebari M, Hatef MR, Abbasi B, Rafatpanah H, Afshari JT, et al. Is there any correlation between high sensitive CRP and disease activity in systemic lupus erythematosus? *Lupus* 2011; 20: 1494-1500.
129. Koç M, Şahin DY, Uysal OK, Karaarslan O, Dönmez E, Abalı G, et al. Kararlı koroner arter hastalarında günlük döngü içinde artış gösteren yüksek duyarlıklı CRP düzeyinin uzun dönem kardiyovasküler olayları öngörmede kullanılabilirliği. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2011; 39: 568-575.
130. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 2003; 290: 2945-2951.
131. Hutchinson WL, Koenig W, Fröhlich M, Sund M, Lowe GD, Pepys MB. Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: age-related values in the adult general population. *Clin Chem* 2000; 46: 934-938.
132. Silva D, Pais de Lacerda A. High-sensitivity C-reactive protein as a biomarker of risk in coronary artery disease. *Rev Port Cardiol* 2012; 31: 733-745.
133. Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of Four Automated High-Sensitivity C-Reactive Protein Methods: Implications for

- Clinical and Epidemiological Applications. *Clinical Chemistry* 2000; 46: 461-468.
134. Guran O, Akalin F, Ayabakan C, Dereli FY, Haklar G. High-sensitivity C-reactive protein in children at risk for coronary artery disease. *Acta Paediatr* 2007; 96: 1214-1219.
 135. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107: 363–369.
 136. Ridker M, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England Journal of Medicine* 2000; 342: 836-843.
 137. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511.
 138. Shalia K, Savant S, Haldankar VA, Nandu T, Pawar P, Divekar S, et al. Study of C-reactive protein and myocardial infarction in the Indian population. *Indian J Clin Biochem* 2012; 27: 74-82.
 139. Krintus M, Kozinski M, Stefanska A, Sawicki M, Obonska K, Fabiszak T, et al. Value of C-reactive protein as a risk factor for acute coronary syndrome: a comparison with apolipoprotein concentrations and lipid profile. *Mediators of Inflammation* 2012: 419804.
 140. Zhang Z, Yang Y, Hill MA, Wu J. Does C-reactive protein contribute to atherothrombosis via oxidant-mediated release of pro-thrombotic factors and activation of platelets? *Front Physiol* 2012; 3: 433.
 141. Wang CH, Li SH, Weisel RD, Fedak PW, Dumont AS, Szmítko P, et al. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation* 2003; 107: 1783–1790.

142. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107: 391-397.
143. Blake GJ, Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. *J Intern Med* 2002; 252: 283-294.
144. Ataie-Kachoie P, Pourgholami MH, Morris DL. Inhibition of the IL-6 signaling pathway: a strategy to combat chronic inflammatory diseases and cancer. *Cytokine Growth Factor Reviews* 2013; 24: 163-173.
145. Jazayeri JA, Carroll GJ, Vernallis AB. Interleukin-6 subfamily cytokines and rheumatoid arthritis: role of antagonists. *International Immunopharmacology* 2010; 10: 1-8.
146. Sarecka B, Zak I, Krauze J. Synergistic effects of the polymorphisms in the PAI-1 and IL-6 genes with smoking in determining their associated risk with coronary artery disease. *Clin Biochem* 2008; 41: 467-473.
147. Sun GQ, Wu GD, Meng Y, Du B, Li YB. IL-6 gene promoter polymorphisms and risk of coronary artery disease in a Chinese population. *Genet Mol Res* 2014; 13: 7718-7724.
148. Sun A, Wang JT, Chia JS, Chiang CP. Serum interleukin-8 level is a more sensitive marker than serum interleukin-6 level in monitoring the disease activity of oral lichen planus. *Br J Dermatol* 2005; 152: 1187-1192.
149. Trikha M, Corringham R, Klein B, Rossi JF. Targeted anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for cancer: a review of the rationale and clinical evidence. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4653-4665.
150. He F, Teng X, Gu H, Liu H, Zhou Z, Zhao Y, et al. Interleukin-6 receptor rs7529229 T/C polymorphism is associated with left main coronary artery disease phenotype in a Chinese population. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 5623-5633.

151. Neurath MF, Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2011; 22: 83-89.
152. O'Reilly S, Ciechomska M, Cant R, Hügle T, van Laar JM. Interleukin-6, its role in fibrosing conditions. *Cytokine Growth Factor Rev* 2012; 23: 99-107.
153. Hercus TR, Thomas D, Guthridge MA, Ekert PG, King-Scott J, Parker MW, et al. The granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor: linking its structure to cell signaling and its role in disease. *Blood* 2009; 114: 1289-1298.
154. Fraser A, May M, Lowe G, Rumley A, Smith GD, Ebrahim S, et al. Interleukin-6 and incident coronary heart disease: results from the British Women's Heart and Health Study. *Atherosclerosis* 2009; 202: 567-572.
155. Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? *Diabetes* 2005; 54: 114-124.
156. Haddy N, Sass C, Drosch S, Zaiou M, Siest G, Ponthieux A, et al. IL-6, TNF-alpha and atherosclerosis risk indicators in a healthy family population: The STANISLAS cohort. *Atherosclerosis* 2003; 170: 277-283.
157. Bhanushali AA, Das BR. Promoter variants in interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha and risk of coronary artery disease in a population from Western India. *Indian J Hum Genet* 2013; 19: 430-436.
158. Spooren A, Kolmus K, Laureys G, Clinckers R, De Keyser J, Haegeman G, et al. Interleukin-6, a mental cytokine. *Brain Res Rev* 2011; 67: 157-183.
159. Dubinski A, Zdrojewicz Z. The role of interleukin-6 in development and progression of atherosclerosis. *Pol. Merkur. Lekarski* 2007; 22: 291-294.
160. Niu W, Liu Y, Qi Y, Wu Z, Zhu D, Jin W. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: a meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int J Cardiol* 2012; 157: 243-252.

161. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005; 96: 939-949.
162. Vitale C, Gebara O, Mercurio G, Wajngarten M, Silvestri A, Rossini P, et al. Value of C-reactive protein levels and IL-6 in predicting events levels in women at increased cardiovascular risk. *Maturitas* 2005; 50: 239-246.
163. Bennet AM, Prince JA, Fei GZ, Lyrenäs L, Huang Y, Wiman B, et al. Interleukin-6 serum levels and genotypes influence the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2003; 171: 359-367.
164. Kuo LT, Yang NI, Cherng WJ, Verma S, Hung MJ, Wang SY et al. Serum interleukin -6 levels, not genotype, correlate with coronary plaque complexity. *Int Heart J* 2008; 49: 391-402.
165. Liu Y, Berthier-Schaad Y, Fallin MD, Fink NE, Tracy RP, Klag MJ, et al. IL-6 haplotypes, inflammation, and risk for cardiovascular disease in a multiethnic dialysis cohort. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 863-870.
166. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin P. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 1139-1147.
167. Ağırbaşı D. Türk Toplumunda Düşük Yüksek Dansiteli Lipoprotein-Kolesterol Düzeyi ve Lesitin Kolesterol Asiltransferaz İlişkisinin Gen Ve Protein Düzeyinde Araştırılması. Doktora Tezi. İstanbul. Marmara Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Anabilim Dalı. 2009.
168. Özdemir O. Medikal İstatistik. 1. Baskı, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2006: 69-71.
169. Springall R, Amezcua-Guerra LM, Gonzalez-Pacheco H, Furuzawa-Carballeda J, Gomez-Garcia L, Marquez-Velasco R, et al. Interferon-gamma increases the ratio of matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in peripheral monocytes from patients with coronary artery disease. *PLoS One* 2013; 8: e72291.

170. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev* 2006; 86: 515-581.
171. Elsenberg EH, Sels JE, Hillaert MA, Schoneveld AH, van den Dungen NA, van Holten TC, et al. Increased cytokine response after toll-like receptor stimulation in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2013; 231: 346-351.
172. Galimudi RK, Spurthi MK, Padala C, Kumar KG, Mudigonda S, Reddy SG, et al. Interleukin 6(-174G/C) variant and its circulating levels in coronary artery disease patients and their first degree relatives. *Inflammation* 2014; 37: 314-321.
173. Su D, Li Z, Li X, Chen Y, Zhang Y, Ding D, et al. Association between serum interleukin-6 concentration and mortality in patients with coronary artery disease. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 726178.
174. Noto D, Cottone S, Baldassare Cefalu A, Vadala A, Barbagallo CM, Rizzo M, et al. Interleukin 6 plasma levels predict with high sensitivity and specificity coronary stenosis detected by coronary angiography. *Thromb Haemost* 2007; 98: 1362-1367.
175. Tajfard M, Latiff LA, Rahimi HR, Mouhebat M, Esmaily H, Taghipour A, et al. Serum inflammatory cytokines and depression in coronary artery disease. *Iran Red Crescent Med J* 2014; 16: e17111.
176. Ol KK, Agachan B, Gormus U, Toptas B, Isbir T. Cox-2 gene polymorphism and IL-6 levels in coronary artery disease. *Genet Mol Res* 2011; 10: 810-816.
177. Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, et al. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. *PLoS Med* 2008; 5: e78.
178. Mahalle N, Garg M, Kulkarni M, Naik S. Association of Inflammatory Cytokines with Traditional and Nontraditional Cardiovascular Risk Factors in

- Indians with known Coronary Artery Disease. *Ann Med Health Sci Res* 2014; 4: 706-712.
179. Tanindi A, Sahinarslan A, Elbeg S, Cemri M. Relationship Between MMP-1, MMP-9, TIMP-1, IL-6 and Risk Factors, Clinical Presentation, Extent and Severity of Atherosclerotic Coronary Artery Disease. *Open Cardiovasc Med J* 2011; 5: 110-116.
180. Cui Y, Zheng L, Jiang M, Jia R, Zhang X, Quan Q, et al. Circulating microparticles in patients with coronary heart disease and its correlation with interleukin-6 and C-reactive protein. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 6437-6442.
181. Zakyntinos E, Pappa N. Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. *J Cardiol* 2009; 53: 317-333.
182. Naidoo T, Konkol K, Biccard B, Dudose K, McKune AJ. Elevated salivary C-reactive protein predicted by low cardio-respiratory fitness and being overweight in African children. *Cardiovasc J Afr* 2012; 23: 501-506.
183. Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA, Rice MM, Warnica JW, Domanski MJ, et al. Prognostic significance of the Centers for Disease Control/American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2007; 115: 1528-1536.
184. Inoue T, Kato T, Uchida T, Sakuma M, Nakajima A, Shibazaki M, et al. Local release of C-reactive protein from vulnerable plaque or coronary arterial wall injured by stenting. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 239-245.
185. Anderson DR, Poterucha JT, Mikuls TR, Duryee MJ, Garvin RP, Klassen LW, et al. IL-6 and its receptors in coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Cytokine* 2013; 62: 395-400.
186. Lai CL, Ji YR, Liu XH, Xing JP, Zhao JQ. Relationship between coronary atherosclerosis plaque characteristics and high sensitivity C-reactive proteins, interleukin-6. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 2452-2456.

187. Habib SS, A Al Masri A. Relationship of high sensitivity C-reactive protein with presence and severity of coronary artery disease. *Pak J Med Sci* 2013; 29: 1425-1429.
188. Piranfar M. The Correlation between High-Sensitivity C-Reactive Protein (hsCRP) Serum Levels and Severity of Coronary Atherosclerosis. *Int Cardiovasc Res J* 2014; 8: 6-8.
189. Shahid HS, Kurdi MI, Zohair AA. Serum high-sensitivity C-reactive protein and lipoprotein(a) levels: a comparison between diabetic and non-diabetic patients with coronary artery disease. *Med J Malaysia* 2011; 66: 113-116.
190. Berti JA, de Faria EC, Oliveira HC. Atherosclerosis in aged mice over-expressing the reverse cholesterol transport genes. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 391-398.
191. Zargar S, Wakil S, Mobeirek AF, Al-Jafari AA. Involvement of ATP-binding cassette, subfamily A polymorphism with susceptibility to coronary artery disease. *Biomed Rep* 2013; 1: 883-888.
192. Kanjuh V, Ostojić M, Lalić N, Stokić E, Adić-Cemerlić N, Gojković-Bukarica L. Low and high density lipoprotein--cholesterol and coronary atherothrombosis. *Med Pregl* 2009; 62: 7-14.
193. Yang Y, Walijee SM, Jin J, Zhao SP, Peng DQ. Serum apolipoprotein A-V in patients with coronary artery disease and its association with triglyceride. *Clin Lipidol* 2012; 6: 462-468.
194. Nicholls SJ, Tuzcu EM, Sipahi I, Grasso AW, Schoenhagen P, Hu T, et al. Statins, high-density lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis. *JAMA* 2007; 297: 499-508.
195. Hovingh GK, Hutten BA, Holleboom AG, Petersen W, Rol P, Stalenhoef A, et al. Compromised LCAT function is associated with increased atherosclerosis. *Circulation* 2005; 112: 879-884.

196. Rousset X, Shamburek R, Vaisman B, Amar M, Remaley AT. Lecithin cholesterol acyltransferase: an anti- or pro-atherogenic factor? *Curr Atheroscler Rep.* 2011; 13: 249-256.
197. Holleboom AG, Daniil G, Fu X, Zhang R, Hovingh GK, Schimmel AW, et al. Lipid oxidation in carriers of lecithin: cholesterol acyltransferase gene mutations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 3066-3075.
198. Simonelli S, Tinti C, Salvini L, Tinti L, Ossoli A, Vitali C, et al. Recombinant human LCAT normalizes plasma lipoprotein profile in LCAT deficiency. *Biologicals* 2013; 41: 446-449.
199. Nordlie MA, Wold LE, Kloner RA. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 39: 667-679.
200. Zhu XY, Xu HW, Hou RY, Liu HF, Xiao B, Yang XS, et al. Lecithin-cholesterol acyltransferase gene 608C/T polymorphism associated with atherosclerotic cerebral infarction. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2006; 23: 419-422.
201. Zhang K, Zhang S, Zheng K, He Y, Zhang L, Su Z, et al. Study on the association of lecithin cholesterol acyltransferase gene polymorphisms with the lipid metabolism in coronary atherosclerotic heart disease. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2003; 20: 135-137.
202. Pisciotta L, Calabresi L, Lupattelli G, Siepi D, Mannarino MR, Moleri E, et al. Combined monogenic hypercholesterolemia and hypoalphalipoproteinemia caused by mutations in LDL-R and LCAT genes. *Atherosclerosis* 2005; 182: 153-159.

6. EKLER

Ek 1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Sayın Gönüllü;

Koroner arter (kalbi besleyen damar) hastalığı ile ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmamızın ismi “Koroner Arter Hastalığında LCAT gen polimorfizmi ve ilişkili inflamasyon biyobelirteçleri” dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Araştırmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Araştırmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Kalbi besleyen damar hastalığı günümüzde en sık görülen ve en önemli sağlık sorunlarından biridir. Kalbi besleyen damar hastalığı, kalp kasını besleyen koroner arterlerin tıkanıklığına verilen addır ve nedeni damar sertliğidir. Bu hastalığın en önemli özelliği ileri evrelerde hayatı tehdit edebilen kalp krizine yol açabilmesidir. Bu hastalığa yol açan risk faktörlerinin bilinerek koruyucu önlemlerin alınması, hastalığın tedavisinden daha da önemlidir. Kalbi besleyen damar hastalığı damar sertliği nedeniyle koroner arterlerin daralması sonucunda ortaya çıkar. Kesin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, etkisi gösterilmiş risk faktörleri vardır. Bu risk faktörlerini ikiye ayırabiliriz, birinci grupta düzeltilebilir risk faktörleri yer alır. Bunlar, sigara içilmesi, hipertansiyon, yüksek kolesterol düzeyi, fiziksel aktivite azlığı ve alkol tüketimi ve strestir. Düzeltilemeyen risk faktörleri ise ileri yaş, erkek cinsiyeti, ailede 55 yaşından önce koroner arter hastalığı öyküsünün olmasıdır. Şüphesiz genetik faktörler kalbi besleyen damar sertliğinin oluşmasında önemli bir etkidir. Bu hastalığa ait risk faktörleri kalıtsal olarak diğer aile bireylerine de geçmektedir. Kesin tanı için koroner anjiyografi gereklidir. Koroner anjiyografi damarların net bir şekilde görülmesi için damar yapısını inceleyen bir yöntemdir. Yani koroner anjiyografi lokal anestezi ile kol ya da bacak damarlarından kalp damarlarına yollanan bir kılavuzla koroner arterlerin görüntülenmesi yöntemidir.

Bu araştırmamızda; koroner arter hastalığı gelişimine neden olabilecek genetik ve bazı yeni biyokimyasal değişkenlerin incelenerek yeni tanı ve tedavi protokollerine ne gibi katkılar sağlayabileceği araştırılacaktır. Genetik parametre

olarak Lesitin kolesterol açıltransferaz gen polimorfizmi çalışılacaktır. Lesitin kolesterol açıltransferaz, dokulardan HDL (iyi kolesterol)'e kolesterol hareketini sağlar. Ayrıca kolesterol geri taşınmasında önemli bir enzim olarak plazmadan karaciğere kolesterol taşınmasını ve karaciğerdeki kolesterol yıkımını tetikler. Bu proteindeki bazı genetik farklılıklarda dokularda kolesterol birikir, bunun da kalbi besleyen damar hastalığının gelişmesinde rol oynayıp oynamadığı araştırılacaktır. Biyokimyasal değişken olarak da total kolesterol, HDL, LDL, VLDL ve trigliserid düzeyleri, yüksek duyarlı C-reaktif protein, IL-6 ve plazma LCAT düzeyleri ölçülecektir. Yine bu değişkenlerin kalbi besleyen damar hastalığının oluşmasında etkili olup olmadığı araştırılacaktır.

Size tanı amacıyla kardiyoloji anabilim dalında koroner anjiyografi uygulanmış ve tanı almış durumundasınız. Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz anjiyografi sonrası sizin yaş, boy, kilo, kan basıncı, kullandığınız ilaçlar ve yakınmalarınız kaydedilecektir. Genetik analiz için 2 ml'lik kan, biyokimyasal analizler için 3 ml'lik kan numunesinin kolunuzdan alınması gerekmektedir.

Bu araştırma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ve Kardiyoloji Anabilim Dallarının ortak katılımı ile yapılacaktır.

Sizin de bu araştırmaya hasta grubunu () / sağlıklı kontrol grubunu () temsilen katılmanızı öneriyoruz. Hasta grubu gönüllüleri için araştırmanın sonucunda eğer koroner arter hastalığı grubunda kontrol grubuna göre fark tespit edilirse tanı ve tedavi amaçlı araştırmalarda faydalı olacağını düşünüyoruz. Sağlıklı gönüllüler için ise kısa vadede direkt bir fayda sağlanmayacak, ancak hayatınızın ileriki aşamalarında araştırılan bu hastalığa bağlı gelişebilecek komplikasyonlarda bu çalışmanın sonuçlarına bağlı olarak elde edilebilecek tanı ve tedavi yöntemlerindeki muhtemel bilimsel kazanımlardan faydalanılacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:

- 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz.
- 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Bu risklerden sizi uzak tutmak için elimizden geldiğince titiz davranacağız.

Elde ettiğimiz kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden kullanılacaktır. Gerekğinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Dr. Hatice KALAYCI'ya 04242370000 – 4691 numaralı telefonla ulaşabileceksiniz.

Bu araştırmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecek, aynı zamanda size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bu araştırmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Araştırmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Araştırmaya bağlı göreceğiniz olası bir zararda sorumluluğunu üstleneceğimizi ve zararın giderilmesi için her türlü müdahalenin yapılacağını ve bu durum ile ilgili tüm harcamaları üstleneceğimizi bilmenizi isteriz.

Hasta/Katılımcının Beyanı

Sayın Dr. Hatice KALAYCI tarafından Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ve Kardiyoloji Anabilim Dalı tarafından yapılacak olan tıbbi bir araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya 'katılımcı' olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin büyük bir gizlilik ile korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

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

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum, bana da bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırma sırasında ve sonrasında araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaşsam Dr. Hatice KALAYCI' ya 0424 2370000-4691 numaralı telefondan

ve Fırat Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı adresinden ulaşabileceğimi biliyorum.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

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

Konu ile ilgili imzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Hastanın:

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, ünvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme Tanığı:

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

7. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Afyonkarahisar'ın Çay ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Çay'da, lise öğrenimimi Ankara'da tamamladım. 1999 yılında Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yükseköğrenimime başladım ve 2005 yılında bu fakülteden mezun oldum. Afyonkarahisar Çay Deresine Sağlık Ocağı'nda ve Çay Devlet Hastanesinde 3 yıl hekimlik yaptım. Daha sonra 2009 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.